

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA



**EMERGÊNCIA DA TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE E EXTENSIVAMENTE RESISTENTE**  
**CARACTERIZAÇÃO EM CO-INFECTADOS POR VIH E EM IMUNOCOMPETENTES**

**Fernando Manuel Tavares Maltez**

**Orientadores: Prof. Doutor Francisco José Nunes Antunes**

**Prof. Doutor José António Frazão Moniz Pereira**

**Tese especialmente elaborada para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e  
especialidade em Doenças Infecciosas e Parasitárias**

**2017**

**A impressão desta tese foi aprovada pelo Conselho Científico da  
Faculdade de Medicina de Lisboa, em reunião de 21/2/2017.**

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA



**EMERGÊNCIA DA TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE E EXTENSIVAMENTE RESISTENTE**

**CARACTERIZAÇÃO EM CO-INFECTADOS POR VIH E EM IMUNOCOMPETENTES**

**Fernando Manuel Tavares Maltez**

**Orientadores: Prof. Doutor Francisco José Nunes Antunes  
Prof. Doutor José António Frazão Moniz Pereira**

**Tese especialmente elaborada para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e especialidade em Doenças Infecciosas e Parasitárias**

**Júri:**

**Presidente: Doutor José Augusto Gamito Melo Cristino, Professor Catedrático e Presidente do Conselho Científico da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**Vogais:**

- Doutor José Gabriel Saraiva da Cunha, Professor Associado com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**
- Doutor José Agostinho Marques Lopes, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**
- Doutor António Carlos Megre Eugénio Sarmento, Professor Catedrático Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**
- Doutor Francisco José Nunes Antunes, Professor Catedrático Jubilado da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (Orientador)**
- Doutor Rui Manuel Martins Victorino, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**
- Doutora Maria Cristina de Brito Eusébio Bárbara Prista Caetano, Professora Associada Convidada com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**
- Doutora Emília de Jesus da Encarnação Valadas, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**As opiniões expressas nesta publicação são da exclusiva responsabilidade do seu autor.**

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA



**EMERGÊNCIA DA TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE E EXTENSIVAMENTE RESISTENTE**

**CARACTERIZAÇÃO EM CO-INFECTADOS POR VIH E EM IMUNOCOMPETENTES**

**Fernando Manuel Tavares Maltez**

**Orientadores: Prof. Doutor Francisco José Nunes Antunes  
Prof. Doutor José António Frazão Moniz Pereira**

**Tese especialmente elaborada para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e especialidade em Doenças Infecciosas e Parasitárias**

**Júri:**

**Presidente: Doutor José Augusto Gamito Melo Cristino, Professor Catedrático e Presidente do Conselho Científico da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**Vogais:**

- Doutor José Gabriel Saraiva da Cunha, Professor Associado com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**
- Doutor José Agostinho Marques Lopes, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**
- Doutor António Carlos Megre Eugénio Sarmento, Professor Catedrático Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**
- Doutor Francisco José Nunes Antunes, Professor Catedrático Jubilado da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (Orientador)**
- Doutor Rui Manuel Martins Victorino, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**
- Doutora Maria Cristina de Brito Eusébio Bárbara Prista Caetano, Professora Associada Convidada com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**
- Doutora Emília de Jesus da Encarnação Valadas, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

**As opiniões expressas nesta publicação são da exclusiva responsabilidade do seu autor.**

*À Catarina, Joana e Inês.*

*Ao João, Gonçalo e Diogo.*

*À Matilde.*

*Aos meus pais.*





*“ Podemos estimar, que é necessária uma comunidade de aproximadamente 200 a 400 pessoas, para que a tuberculose se estabeleça numa população, sem que desapareça da comunidade ou que progrida ao ponto de matar todos os seus membros. Visto da perspectiva do microrganismo, o sucesso significa, infectar um número suficiente de pessoas, para assegurar a reprodução e a proliferação e, sem matar demasiados dos infectados, de forma a garantir a sua própria existência.”*

McGrath JW, 1988

## LISTA DE ACRÓNIMOS

ADN- ácido desoxirribonucleico

AM- amicacina

ARV- antirretrovíricos

BAAR- bacilos ácido-álcool resistentes

CDC- *Centers for Disease Control and Prevention*

CFX- ciprofloxacina

CFZ- clofazimina

CM- capreomicina

CS- cicloserina

DGS- Direcção-Geral da Saúde

DP- desvio padrão

DPOC- doença pulmonar obstrutiva crónica

EMB- etambutol

ETO- etionamida

EUA- Estados Unidos da América

$\gamma$ GT- gamaglutamil-transpeptidase

Hb- hemoglobina

HCC- Hospital de Curry Cabral

IIQ- intervalo inter-quartil

INH- isoniazida

KM- canamicina

LBA- lavado broncoalveolar

LZD- linezolida

Na- sódio

MXF- moxifloxacina

MIRU-VNTR- *mycobacterial interspersed repetitive units-variable number of tandem repeats*

MR- multirresistência

OFX- ofloxacina

OMS- Organização Mundial de Saúde

OR- *odds ratio*

PAS- ácido para-aminosalicílico

PZA- pirazinamida

RFB- rifabutina

RFLP-IS6110- *restriction fragment length polymorphism*, seguido de hibridização com a sequência de inserção 6110

RMP- rifampicina

SFX- esparfloxacina

SM- estreptomicina

SNC- sistema nervoso central

SRI- síndrome de reconstituição imunitária

TAC- tomografia axial computadorizada

TARV- terapêutica antirretrovírica

TB- tuberculose

TB MR- tuberculose multirresistente

TB pré-ER- tuberculose pré-extensivamente resistente

TB TR- tuberculose totalmente resistente

TB ER- tuberculose extensivamente resistente

TGO- transaminase glutâmico-oxalacética

TOD- toma sob observação directa

VHB- vírus da hepatite B

VHC- vírus da hepatite C

VIH- vírus da imunodeficiência humana

VIH-1- vírus da imunodeficiência humana de tipo 1

VIH-2- vírus da imunodeficiência humana de tipo 2

VIH-D- VIH-1 e VIH-2

VS- velocidade de sedimentação

# ÍNDICE

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	15
ÍNDICE DE TABELAS .....	18
ÍNDICE DE FIGURAS .....	21
1. INTRODUÇÃO .....	23
2. OBJECTIVOS .....	33
2.1. OBJECTIVOS PRINCIPAIS .....	33
2.2. OBJECTIVOS SECUNDÁRIOS .....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	35
4. MÉTODOS ESTATÍSTICOS .....	41
5. RESULTADOS .....	43
5.1. ANÁLISE GLOBAL DA AMOSTRA .....	43
5.2. ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE CO-INFECTADOS POR VIH E IMUNOCOMPETENTES.....	51
5.2.1. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS .....	51
5.2.2. RESULTADOS CLÍNICOS .....	55
5.2.2.1. Sintomas e sinais .....	55
5.2.2.2. Tuberculose extrapulmonar.....	58
5.2.3. RESULTADOS LABORATORIAIS .....	59
5.2.4. RESULTADOS IMAGIOLÓGICOS .....	62
5.2.4.1. Radiografia do tórax .....	62
5.2.4.2. Tomografia axial computadorizada torácica .....	64
5.2.4.3. Tomografia axial computadorizada abdominal e ecografia abdominal .....	66
5.2.5. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS .....	67
5.2.5.1. Exame directo da expectoração .....	67
5.2.5.2. Locais de identificação em exame directo e em exame cultural .....	68
5.2.5.3. Padrões de resistência .....	69
5.2.5.4. Tempo para o diagnóstico .....	73
5.2.5.5. Diagnóstico subsequente à morte.....	75
5.2.6. RESULTADOS DO TRATAMENTO .....	76
5.2.6.1. Regimes terapêuticos em doentes com diagnóstico presuntivo .....	76

5.2.6.2. Regimes terapêuticos em doentes com diagnóstico definitivo .....	76
5.2.6.3. Adesão à terapêutica e cura .....	77
5.2.6.4. Toxicidade e adesão à terapêutica .....	78
5.2.6.5. Terapêutica antirretrovírica e taxas de cura .....	79
5.2.6.6. Taxas de cura .....	80
5.2.6.7. Taxas de cura nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012 .....	81
5.2.6.8. Mortalidade e sobrevivência .....	83
5.2.6.9. Mortalidade e sobrevivência nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012 .....	87
5.2.7. ESTUDO MOLECULAR .....	89
5.2.7.1. Caracterização genética das estirpes de <i>M. tuberculosis</i> .....	89
5.2.7.2. Padrões de resistência .....	91
5.2.7.3. Epidemiologia, clínica, diagnóstico e evolução de acordo com as características das estirpes ....	92
5.2.8. UMA EPIDEMIA NOSOCOMIAL EM 1995 E 1996 .....	95
5.2.8.1. Padrões de resistência da estirpe Lisboa, da estirpe B e de outras em 1995 e 1996 .....	98
6. DISCUSSÃO .....	99
6.1. EPIDEMIOLOGIA .....	99
6.2. CLÍNICA E DIAGNÓSTICO.....	109
6.3. TRATAMENTO E EVOLUÇÃO .....	124
6.4. ESTUDO MOLECULAR .....	134
6.5. EPIDEMIA NOSOCOMIAL DE 1995 e 1996 .....	138
7. CONCLUSÕES .....	143
8. BIBLIOGRAFIA .....	161
AGRADECIMENTOS.....	193



## RESUMO

A tuberculose multirresistente (TB MR) e a tuberculose extensivamente resistente (TB ER) são um importante problema de Saúde Pública, em Portugal. No nosso País, a TB MR e a TB ER começaram a ser identificadas na década de 90 do século passado e, desde então, emergiram em indivíduos co-infectados por vírus da imunodeficiência humana (VIH) e em imunocompetentes, com particular incidência na região de Lisboa. No entanto, pouco se sabe sobre a sua prevalência real na cidade, as características demográficas e clínicas dos doentes, a contribuição dos toxicodependentes e dos imigrantes ou de outros grupos populacionais para a sua dimensão, se resultam de má adesão ao tratamento ou de transmissão primária, qual é a importância da reinfeção e da co-infeção, quais são os padrões de resistência dominantes, quais são as possibilidades de cura ou qual é a origem e as características das estirpes de *M. tuberculosis* envolvidas.

Em 311 doentes (237 co-infectados por VIH e 74 imunocompetentes), admitidos no Serviço de Doenças Infecciosas, do Hospital de Curry Cabral (HCC), de 1993 a 2012, com o diagnóstico de TB MR ou de TB ER, na sua maioria de nacionalidade portuguesa (80,7%) e residentes no distrito de Lisboa (89,4%), fez-se um estudo misto (retrospectivo e prospectivo) e comparativo entre aqueles dois grupos de doentes. Para tal, avaliaram-se as suas características epidemiológicas e clínicas, de diagnóstico, de resposta à terapêutica e de evolução e, a partir das culturas, ainda, disponíveis, fez-se a caracterização genética das estirpes isoladas de *M. tuberculosis*. Para os genótipos identificados foram, de igual modo, diferenciadas as mesmas características.

Naquele período de tempo (1993 a 2012) verificou-se que a prevalência conjunta de TB MR e TB ER, entre o total de doentes com tuberculose (TB), foi elevada (12,7%) e, por outro lado, a sua incidência média anual (11,2%), foi superior à reportada pelas autoridades de saúde para o mesmo período, em Portugal (valor máximo de 3,1% em 2000) e que, embora mostrando tendência para diminuir e estabilizar, depois de 2007, em valor próximo de 3%, permaneceu mais elevada do que no resto do País (0,6%, em 2012). Nesta amostra, os co-infectados por VIH foram o principal grupo de doentes afectados pela TB MR e TB ER, com uma incidência média anual de 13,2% vs 8,7% em imunocompetentes, contudo, enquanto nos anos 90 a doença afectou, sobretudo, co-infectados e toxicodependentes, com história

de má adesão ao tratamento (TB MR ou TB ER secundária), os quais, nessa época, disseminaram a doença em meio hospitalar e na comunidade, nos últimos anos (2006 a 2011), a incidência foi semelhante ou maior em imunocompetentes e foi maior a proporção de casos de TB MR ou de TB ER primária. Na globalidade dos doentes deste estudo, 60,7% dos casos de TB MR e TB ER resultou de transmissão primária. A doença atingiu, sobretudo, grupos etários jovens e uma proporção importante de imigrantes imunocompetentes e, numa percentagem relevante dos doentes, não se identificaram factores de risco para TB, nem história de TB anterior, fazendo supor um elevado potencial de transmissão na comunidade.

Entre os doentes de Lisboa identificou-se o padrão típico na TB MR, caracterizado por resistência à isoniazida (INH), à rifampicina (RMP), ao etambutol (EMB) e à estreptomicina (SM), que foi comum a co-infectados por VIH e a imunocompetentes, com ou sem história de TB prévia. Este facto é sugestivo de transmissão activa entre os dois grupos de doentes e, provavelmente, de co-infectados por VIH para imunocompetentes, porque entre estes foi maior o número dos que nunca haviam tido TB. A sobreposição verificada nos padrões de resistência e o facto da maioria dos doentes não ter história de TB prévia sugere, de igual modo, que a maioria dos casos resultou de infecção primária ou de reinfecção recente e, em consequência, de transmissão na comunidade e não de reactivação.

Nos doentes com TB MR e TB ER, a taxa de resistência individual aos restantes antibacilares testados foi muito elevada (superior a 60% para qualquer dos fármacos de 1ª linha e às fluoroquinolonas e superior a 48% para os injectáveis de 2ª linha), condicionando o sucesso terapêutico e prevendo a evolução para a tuberculose totalmente resistente (TB TR), potencialmente, intratável, a qual, também, foi identificada na amostra deste estudo. Não se encontraram diferenças de apresentação clínica, laboratorial ou radiológica, as quais permitissem suspeitar, atempadamente, do diagnóstico, mas detectaram-se responsabilidades que podem ser repartidas pelos clínicos, pela negligência dos doentes e pelos atrasos na informação dos resultados do diagnóstico, que contribuíram para longos tempos de doença oculta, não diagnosticada (mediana de 77 dias), que favoreceram a disseminação da TB na comunidade e que comprometeram, de igual modo, o sucesso terapêutico e o prognóstico, particularmente no grupo dos co-infectados por VIH. A taxa de cura dos doentes com TB MR e TB ER foi de 13,4% para os co-infectados e de 62,9% para os



imunocompetentes e o tempo mediano de sobrevivência, após o diagnóstico, foi, respectivamente, de 4,6 meses e de 91 meses.

A caracterização genética de 92 estirpes de *M. tuberculosis*, provenientes de igual número de doentes, mostrou que pertencem a uma família designada, no início dos anos 90, de Lisboa e que são as mais prevalentes e as principais responsáveis pela epidemia que ocorre na cidade. Dois *clusters* (76,1% de todas as estirpes caracterizadas), designados por *cluster* Lisboa (56,5% das estirpes) e por *cluster* B (19,6% das estirpes), com homologia acima de 85%, disseminaram-se, de início em meio hospitalar, sobretudo entre co-infectados por VIH e toxicodependentes (causaram uma epidemia nosocomial naquele Serviço de Doenças Infecciosas, em 1995 e 1996, em que o estudo genético comprovou a reinfecção e co-infecção por estirpes diferentes). De seguida, espalharam-se na comunidade e para fora do País e continuaram a ser, até 2012, os *clusters* mais identificados, sendo os responsáveis pelo maior número de casos de TB MR e TB ER da cidade, agora, sobretudo primária e entre imunocompetentes. Os padrões de resistência mais prevalentes, em cada *cluster*, coincidiram, também, com os mais identificados nos doentes ao longo do estudo, sendo de assinalar que, quatro das estirpes estudadas eram de TB TR.

As estirpes pertencentes a estes dois *clusters* associaram-se a taxas menores de cura (21,7% no *cluster* Lisboa e 25% no *cluster* B) e a tempos medianos mais baixos de sobrevivência (7,1 meses no *cluster* Lisboa e 6,2 meses no *cluster* B) do que os de outras estirpes e o seu comportamento epidemiológico e clínico assemelhou-se ao de estirpes, caracterizadas, também, por mortalidade elevada e rapidez de progressão, como a célebre estirpe Beijing. Por fim, assinala-se a identificação, na amostra, de duas estirpes Beijing, o que comprova o risco de introdução periódica de novas estirpes de *M. tuberculosis* no nosso meio, o que pode vir a dificultar o controlo da epidemia.

O conjunto dos dados obtidos neste estudo ajuda a perceber as razões e características da epidemia, a entender a cadeia epidemiológica entre co-infectados por VIH e imunocompetentes e a conhecer as estirpes responsáveis pela TB MR e TB ER, em Lisboa, contribuindo para se adequarem as medidas de prevenção e de terapêutica da TB à realidade do meio.

**Palavras-chave:** TB MR, TB ER, VIH, imunocompetentes, família Lisboa.



## ABSTRACT

Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and extensively drug-resistant (XDR-TB) are a major public health issue, in Portugal. In our country, MDR-TB and XDR-TB were first reported in the last decade of the past century and, since then, emerged among immunocompetents and human immunodeficiency virus (HIV) coinfecting individuals, with particular incidence in the region of Lisbon. Meanwhile, little is known about their real prevalence, the demographic and clinical features of the patients, the relative weight of injecting-drug users, immigrants or other specific groups on the global burden of the disease, whether they represent the outcome of poor adherence to treatment or primary transmission, what the importance of reinfection and coinfection, the dominating resistance patterns, the real cure rates or the origin and particular features of the *Mycobacterium tuberculosis* strains involved.

A mixed retrospective and prospective comparative study was done involving 311 patients (237 HIV-coinfecting and 74 immunocompetents) admitted to the Infectious Diseases Department of Hospital de Curry Cabral, between 1993 and 2012, who were diagnosed with MDR-TB or XDR-TB. The majority were portuguese (80,7%) and lived in the district of Lisbon (89,4%). Epidemiological, clinical and diagnosis features, response to treatment and prognosis were assessed among the two population groups, and genetic characterization of the isolated *Mycobacterium tuberculosis* strains was performed from those cultures that were still available. For the different genotypes identified, the same characteristics were assessed.

In the study period (1993 to 2012), the joint prevalence of MDR and XDR-TB among the total of tuberculosis (TB) cases was found to be high (12,7%). Additionally, its average annual incidence (11,2%) was found to be superior to that reported by the national health authorities for the same time period, in Portugal (maximum of 3,1% in 2000) and, despite showing, since 2007, a trend towards a decline and stabilization around 3%, it remained higher than in the rest of the country (0,6% in 2012). In the present sample, the HIV-coinfecting were the main group affected by MDR-TB and XDR-TB, with a average annual incidence of 13,2% versus 8,7% in immunocompetents. However, while in the 90s the disease mainly affected HIV-coinfecting patients and injecting-drug users, with a past history

of poor adherence to treatment regimens (secondary MDR or XDR-TB) and who were responsible for disease spread both in the hospital setting and in the community, in recent years (2006 to 2011) the incidence was similar or even higher among immunocompetents, and the relative proportion of primary MDR and XDR-TB cases was also higher. Considering the whole period of the study, 60,7% of the cases of MDR and XDR-TB resulted from primary transmission. The disease mainly affected young age groups and an important proportion of immunocompetent immigrants and, in a significant percentage of patients no past history or traditional risk factors for TB were found, suggesting a high potential for transmission in the community.

Among this group of patients from Lisbon, the classical resistance pattern for MDR-TB was observed, characterized by resistance to isoniazid (INH), rifampicin (RMP), ethambutol (EMB) and streptomycin (SM), which was present in both HIV-coinfected and immunocompetent patients, regardless of past history of TB. This fact suggests active transmission between these two patient groups and, probably, from HIV-coinfected to immunocompetent patients, since the proportion of patients with no previous history of TB was higher among the latter. The overlapping patterns of resistance and the absence of past history of TB in the majority of patients also suggests that most cases resulted from primary infection or recent reinfection and, consequently, from ongoing transmission in the community instead of reactivation.

In this group of MDR and XDR-TB patients, a very high individual resistance rate to other anti-tuberculous drugs was observed (above 60% for first-line drugs plus fluoroquinolones, and above 48% for second-line injectable agents), limiting the therapeutic success and anticipating the progression to totally drug-resistant tuberculosis (TDR-TB), potentially incurable, which was also identified in the present study. No significant differences in the clinical, laboratory or radiological presentation that could allow for a timely suspicion of the diagnosis were found. Shared responsibilities between physicians, delay in diagnosis communication and patient carelessness were identified, though, which accounted for prolonged hidden, undiagnosed disease (median of 77 days), favoured dissemination in the community and hampered therapeutic outcome and prognosis, particularly among HIV-coinfected patients. Cure rate for MDR-TB and XDR-TB patients was 13,4% in the HIV-coinfected and 62,9% in the immunocompetent group, and the median survival time after diagnosis was 4,6 and 91 months, respectively.

Genetic characterization of 92 *Mycobacterium tuberculosis* strains, from the same number of patients, showed that they belong to a family denominated, in the early 90s, as Lisbon, and that they are the most prevalent and main responsible for the ongoing epidemics in the city. Two clusters (76,1% of the characterized strains), designated Lisbon cluster (56,5% of the strains) and B cluster (19,6% of the strains), with genetic homology above 85%, initially disseminated in the intra-hospital setting, mainly among HIV-coinfected and injecting-drug users (causing a nosocomial epidemics in the aforementioned Infectious Diseases Department, in 1995 and 1996, where the genotypic testing proved reinfection or coinfection with different strains). Later, these clusters spread in the community and abroad, and continued to be, until 2012, the most commonly identified ones, accounting for the majority of MDR and XDR-TB cases in the city, nowadays consisting mainly on primary infection among immunocompetents. Most prevalent resistance patterns for each cluster overlap, with those most commonly observed in the patients of this study. Remarkably, four strains corresponded to TDR-TB cases.

Strains included in these two clusters were associated with lower cure rates (21,7% for the Lisbon cluster and 25% for the cluster B) and lower median survival times (7,1 months for the Lisbon cluster and 6,2 months for the cluster B) than other strains, and their clinical and epidemiological behavior resembled that one of strains characterized by fast disease progression and high mortality rates, such as the renowned Beijing strain. Finally, worth mentioning, two Beijing strains were identified in the sample of this study, which proves the ongoing risk of periodic introduction of new *Mycobacterium tuberculosis* strains in our setting, which might limit the ability to control the epidemics.

The data obtained in this study is a valuable help to recognize the causes and characteristics of the epidemics, to understand the epidemiological chain between HIV-coinfected and immunocompetents and to identify the strains responsible for MDR and XDR-TB in Lisbon, contributing to the adaptation of TB preventive and therapeutic measures.

**Keywords:** MDR TB, XDR TB, HIV, immunocompetents, Lisboa family.

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Informação recolhida do processo clínico do doente .....	36
<b>Tabela 2-</b> Proveniência dos 311 doentes com TB MR ou TB ER .....	44
<b>Tabela 3-</b> Características sociodemográficas dos 311 doentes com TB MR ou TB ER .....	46
<b>Tabela 4-</b> Profissão dos doentes com TB MR ou TB ER .....	46
<b>Tabela 5-</b> Principais características epidemiológicas e clínicas dos 311 doentes com TB MR ou TB ER .....	48
<b>Tabela 6-</b> Características comportamentais, sexuais e de consumos de drogas por via intravenosa dos doentes com TB MR ou TB ER (co-infectados por VIH e imunocompetentes) .....	49
<b>Tabela 7-</b> Características epidemiológicas, sociodemográficas e de localização anatómica da TB MR e da TB ER, nos doentes co-infectados por VIH e nos imunocompetentes .....	53
<b>Tabela 8-</b> Duração de sintomas em doentes co-infectados por VIH ou imunocompetentes, com TB MR e TB ER .....	55
<b>Tabela 9-</b> Caracterização dos sintomas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER .....	56
<b>Tabela 10-</b> Caracterização dos sinais clínicos em co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER .....	57
<b>Tabela 11-</b> Localizações da TB extrapulmonar MR ou ER em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes .....	58
<b>Tabela 12-</b> TB pulmonar MR ou ER com envolvimento extrapulmonar em doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes .....	59
<b>Tabela 13-</b> Variáveis laboratoriais observadas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER .....	61
<b>Tabela 14-</b> Caracterização das radiografias do tórax em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB pulmonar MR e ER .....	63
<b>Tabela 15-</b> Caracterização das TAC torácicas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB pulmonar MR e ER .....	65
<b>Tabela 16-</b> Caracterização das TAC/ecografias abdominais nos doentes com TB MR ou TB ER .....	66
<b>Tabela 17-</b> Resultados do primeiro exame directo da expectoração em doentes com TB pulmonar MR ou ER .....	67
<b>Tabela 18-</b> Flúidos ou tecidos orgânicos com exame directo ou com exame cultural positivos, em simultâneo, nos doentes com TB MR e TB ER .....	69
<b>Tabela 19-</b> Identificação das resistências aos antituberculosos de 1ª e 2ª linhas em co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB MR e TB ER .....	70
<b>Tabela 20-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR .....	71

<b>Tabela 21-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB ER .....	71
<b>Tabela 22-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR ou TB ER e com história de TB no passado incorrectamente tratada .....	72
<b>Tabela 23-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR ou TB ER, sem história de TB ou com TB sensível tratada e curada, no passado .....	73
<b>Tabela 24-</b> Intervalos de tempo que decorreram até ao diagnóstico microbiológico de TB e até ao de TB MR ou TB ER e tempo de doença sem diagnóstico definitivo .....	74
<b>Tabela 25-</b> Doentes com diagnóstico de TB MR e TB ER (pulmonar ou extrapulmonar), subsequente à morte .....	76
<b>Tabela 26-</b> Taxas de adesão à terapêutica em doentes com diagnóstico definitivo de TB MR e de TB ER .....	77
<b>Tabela 27-</b> Taxas de cura em doentes com TB MR ou TB ER, com boa e má adesão à terapêutica .....	78
<b>Tabela 28-</b> Toxicidade em doentes com TB MR ou TB ER, com boa e má adesão à terapêutica .....	79
<b>Tabela 29-</b> Relação entre doentes com e sem TARV e TB MR ou TB ER e as taxas de cura da TB .....	80
<b>Tabela 30-</b> Evolução dos doentes com TB MR e com TB ER, submetidos a terapêutica antituberculosa .....	80
<b>Tabela 31-</b> Evolução de doentes com TB MR e TB ER submetidos a terapêutica antituberculosa, nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012 .....	82
<b>Tabela 32-</b> Efeito do tipo de doente, do período temporal e do tipo de resistência nas taxas de cura .....	83
<b>Tabela 33-</b> Tempo mediano de sobrevivência e probabilidades de sobrevivência dos co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER e com ou sem história de TB anterior, incorrectamente tratada .....	84
<b>Tabela 34-</b> Tempo mediano de sobrevivência e probabilidades de sobrevivência nos períodos temporais de 1993-2000 e 2001-2012 .....	87
<b>Tabela 35-</b> Efeito do tipo de doente (co-infectado e imunocompetente) e do período temporal nas probabilidades de sobrevivência .....	89
<b>Tabela 36-</b> Distribuição anual das estirpes de <i>M. tuberculosis</i> multirresistente e extensivamente resistente caracterizadas geneticamente .....	90
<b>Tabela 37-</b> Padrões de resistência aos antituberculosos de 1ª e de 2ª linhas das estirpes Lisboa, das estirpes B e de outras estirpes .....	91
<b>Tabela 38-</b> Características epidemiológicas, clínicas, do diagnóstico e evolutivas dos doentes infectados pela estirpe Lisboa, pela estirpe B e por outras estirpes .....	93
<b>Tabela 39-</b> Resultados da terapêutica antituberculosa em doentes com TB MR ou TB ER, com e sem TB anterior sensível, incorrectamente tratada, nos anos de 1995 e de 1996 .....	95
<b>Tabela 40-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e de 2ª linhas dos doentes com TB MR e com TB ER, nos anos de 1995 e de 1996 .....	96

<b>Tabela 41-</b> Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e de 2ª linhas, nos doentes com TB MR e com TB ER e com ou sem história de TB anterior sensível aos antituberculosos, incorrectamente tratada, nos anos de 1995 e de 1996 .....	96
<b>Tabela 42-</b> Comparação da estirpe Lisboa, estirpe B e outras estirpes, nos anos de 1995 a 1996 .....	97
<b>Tabela 43-</b> Padrões de resistência aos antibacilares da estirpe Lisboa, da estirpe B e de outras estirpes, nos anos de 1995 e 1996 .....	98



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Distribuição e incidência anuais de novos doentes com TB MR ou TB ER (1993 a 2012) .....	43
<b>Figura 2-</b> Distribuição espacial de casos de TB MR e TB ER pelas freguesias da cidade de Lisboa .....	45
<b>Figura 3-</b> Histograma das idades dos doentes com TB MR ou TB ER .....	46
<b>Figura 4-</b> Distribuição anual de novos doentes e incidência anual, conforme TB MR ou TB ER .....	47
<b>Figura 5-</b> Distribuição percentual da TB MR e da TB ER por doentes co-infectados por VIH e por imunocompetentes .....	48
<b>Figura 6-</b> Distribuição anual do número de doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER .....	51
<b>Figura 7-</b> Incidência anual de TB MR ou de TB ER, em co-infectados por VIH e em imunocompetentes (1993 – 2012) .....	52
<b>Figura 8-</b> Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes .....	85
<b>Figura 9-</b> Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER .....	85
<b>Figura 10-</b> Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER e com ou sem história de TB anterior, incorrectamente tratada .....	86
<b>Figura 11-</b> Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e dos imunocompetentes, durante os períodos temporais de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012 .....	88
<b>Figura 12-</b> Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH com TB MR e com TB ER e dos doentes imunocompetentes com TB MR e com TB ER, durante os períodos temporais de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012 .....	88



## 1. INTRODUÇÃO

A TB continua a ser uma das principais causas de morte, por doença infecciosa, em todo o Mundo. Um terço da população mundial está infectada por *M. tuberculosis*, calculando-se em oito a nove milhões o número de indivíduos que, anualmente, desenvolvem a doença.<sup>1-</sup>

<sup>3</sup> Destes, cerca de dois milhões virão a morrer, verificando-se que a maior parte das infecções e mortes ocorrem nos países em vias de desenvolvimento.<sup>2-7</sup> Em 2012, existiriam 12 milhões de infectados e teriam ocorrido 8,6 milhões de novos casos de doença, dos quais 1,1 milhões (cerca de 13%) eram doentes infectados por VIH. Ainda de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), terão morrido nesse ano, 1,3 milhões de pessoas, incluindo 320.000 infectados por VIH.<sup>2,8</sup> Dependendo das áreas geográficas, 10-67 % dos casos de TB são identificados em infectados por VIH, dado que 5-50% destes estão em risco de desenvolver TB nalguma fase da infecção e, em certas regiões do globo, é esta que vai pôr em evidência a infecção por VIH.<sup>9-13</sup> Estima-se em 10 milhões, o número global de co-infectados e em cerca de um milhão, o número total daqueles que desenvolvem, anualmente, TB activa. A TB é, também, a principal causa de morte ligada à infecção por VIH.

Portugal é dos países da União Europeia com maior incidência das duas infecções. A imbricação das duas epidemias, no País, faz com que 10-20% dos casos de TB esteja ligada à infecção por VIH—19,8% em 2012, de acordo com o Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose, da Direcção-Geral da Saúde (DGS).<sup>14-16</sup> A infecção por VIH, ao diminuir as defesas imunitárias do hospedeiro, vai favorecer o risco de transmissão de *M. tuberculosis*, acelerar a progressão da infecção para doença e facilitar a reactivação tardia da infecção latente, aumentando, assim, o número de casos de TB quer em jovens, quer em idosos.<sup>11-</sup>

<sup>13,17-23</sup> Pelo compromisso do sistema imunitário, o quadro clínico da TB pode ser diferente daquele observado no hospedeiro imunocompetente (atípico, por vezes mesmo bizarro), criando dificuldades de diagnóstico clínico, apesar do envolvimento pulmonar permanecer como a localização de apresentação mais frequente (longe vai o tempo da TB “clássica” dos anos 50, conhecida por tísica e caracterizada por tosse, hemoptises, cavitação pulmonar e desnutrição extrema). Hoje, no contexto da co-infecção por VIH, a TB, embora mantendo o mesmo grau de consumpção, pode ocorrer com imagens radiológicas

pulmonares normais, predominando o envolvimento extrapulmonar, sem queixas respiratórias significativas.<sup>24-28</sup> Ainda, no caso de infecção por VIH, a identificação de *M. tuberculosis* é complicada pela negatividade dos resultados dos exames microbiológicos, o que pode atrasar o reconhecimento da doença.<sup>29-33</sup> O doente com TB pulmonar é, com frequência, contagioso, podendo disseminar a doença através das gotículas respiratórias, emitidas com a tosse, pelo espirro ou pela simples fala. O atraso no diagnóstico pode levar ao prolongamento do estado de contagiosidade dos doentes e, em consequência, a risco acrescido para a Saúde Pública. Em geral, o tratamento da TB, convenientemente prescrito e administrado, resulta na cura de mais de 90% dos doentes.<sup>5</sup> Contudo, os erros terapêuticos ou a má adesão ao tratamento, que é apanágio de alguns doentes, tornam maior o risco de ocorrência de resistência aos antituberculosos, podendo uma estirpe de *M. tuberculosis* tornar-se, rapidamente, insensível à acção de vários fármacos, disseminando-se, de seguida, na comunidade.<sup>34-38</sup>

Designa-se por TB MR, aquela em que o agente é resistente, pelo menos, à INH e à RMP, os dois antituberculosos mais potentes.<sup>39,40</sup> De acordo com a OMS,<sup>41</sup> em doentes nunca tratados, a prevalência global de resistência primária a, pelo menos, um antituberculoso de 1ª linha, é de 10,7%, de multirresistência (MR) primária, é de 1,2% e em doentes previamente tratados é, respectivamente, de 23,3% e de 7,7%. Segundo a OMS, a TB MR está a aumentar<sup>8,42-45</sup> e, em 2012, representou, globalmente, 3,6% dos novos casos e 20,2% dos casos, previamente, tratados, contudo a prevalência em todo o Mundo não é, verdadeiramente, conhecida (só estão disponíveis os dados de 136 países), particularmente nas áreas em que a carga de TB é muito elevada. Admitia-se que, em 2012, tivessem ocorrido 450.000 novos casos (e uma prevalência de 630.000), que terão causado 150.000 mortes,<sup>2</sup> embora só tivessem sido notificados 94.000, a maioria, proveniente de países europeus e da África do Sul.<sup>2</sup> Mais de 60% dos doentes foram identificados na China, na Índia, na Federação Russa e na África do Sul e a maior incidência ocorre no leste europeu e no sudeste asiático.<sup>2,8,46</sup> Dos 27 países do Mundo com maior carga de TB MR e que albergam 85% dos casos, estimados globalmente, 15 estão na região europeia, onde a prevalência varia de nove a 32% entre os novos casos (32,3% na Bielorrússia, 30,3% no Cazaquistão, 22,9% na Estónia, 19,4% na Moldávia e 12,1% na Letónia) e é superior a 50% entre os doentes previamente tratados (75,6% na Bielorrússia, 63,5% na Moldávia, 57,7% na Estónia e 55,8% no Azerbaijão).<sup>2,8</sup> Em infectados por VIH, várias epidemias por TB MR

foram já descritas em todo o Mundo.<sup>23,47-73</sup> Para que seja equacionado um esquema terapêutico, potencialmente eficaz, torna-se necessário recorrer a antituberculosos de 2ª linha (de reserva), que são menos eficazes, mais tóxicos e mais dispendiosos, exigindo um tratamento mais complexo e mais prolongado. Por outro lado, o prognóstico é mais reservado, com taxas de cura entre 6-50%,<sup>5,8,74</sup> constituindo-se como um desafio aos programas de controlo da TB.

O problema da TB MR agravou-se nos últimos anos, pela descrição de casos de TB, que são resistentes a todos ou a quase todos os antituberculosos de 2ª linha, reduzindo, assim, substancialmente, as probabilidades de êxito terapêutico.<sup>75-80</sup> Esta forma particular de TB, designada por TB ER, é caracterizada por MR, isto é de resistência, pelo menos, à INH e à RMP, acrescida de resistência a qualquer fluoroquinolona e a, pelo menos, um dos três antituberculosos injectáveis de 2ª linha—capreomicina(CM), canamicina(KM) ou amicacina (AM).<sup>80-84</sup> Revela-se com elevada mortalidade, emergindo, de igual modo, um pouco por todo o Mundo, em associação com a infecção por VIH e pondo, de igual modo, em maior risco, aqueles que tenham situações, que comprometam a sua imunidade.<sup>85</sup> Se bem que já tivesse sido referida em vários continentes,<sup>81,86-90</sup> só se tornou notabilizada em 2006, na XVI Conferência Internacional de SIDA, em Toronto, com a descrição da primeira epidemia ocorrida no hospital rural de Tugela Ferry, na província de Kwazulu-Natal, na África do Sul, afectando 53 doentes, dos quais 44 estavam infectados por VIH e morrendo 52, em média, 16 dias após a colheita da expectoração.<sup>85,91</sup>

Os dados globais sobre a TB ER são, ainda, menos representativos. Estudos populacionais, no Irão, nos Estados Unidos da América (EUA) de 1993 a 2004, na Lituânia (2000-2002) e na Coreia do Sul (2004), apontavam para que, respectivamente, 10,9%, 4%, 19% e 15% dos casos de TB MR fossem de TB ER<sup>92,93</sup> e estudos mais recentes (2008-2011) referem a sua identificação em, pelo menos, 92 países.<sup>2,5,8,46,94</sup> Desde 2007, apenas 13 países referiram mais de 10 casos, num único ano. Cinco desses países estão na Europa de Leste e na Ásia Central e têm proporções de TB ER de 12,7% (Azerbaijão), 11,9% (Bielorrússia), 18,7% (Estónia), 12,6% (Letónia) e 16,5% (Lituânia).<sup>2,8</sup> A OMS estima em 25.000 o número de casos de TB ER a emergirem todos os anos e que em 2012, 9,6% dos casos de TB MR, tenham sido, de facto, casos de TB ER.<sup>2,5,8,46</sup> Actualmente, não se sabe a verdadeira dimensão do problema, mas a TB ER emergiu como uma ameaça séria para a Saúde Pública e para o controlo da TB, levantando particulares preocupações, quanto a uma futura epidemia de TB

intratável. Depois da TB MR, depois da TB pré-extensivamente resistente (TB pré-ER), definida por TB MR com resistência a uma fluoroquinolona ou a um antituberculoso injectável de 2ª linha<sup>95</sup> e depois da TB ER, em 2009, Velayati, dava conta da existência no Irão de 15 doentes imunocompetentes, infectados por estirpes de *M. tuberculosis* das superfamílias Beijing e Harlem, resistentes a todas as classes de antituberculosos de 2ª linha, designando a doença por TB TR.<sup>96</sup> Já em 2011, clínicos de Bombaim, na Índia, relatavam mais quatro casos<sup>97</sup> e em 2012 era igualmente identificada na África do Sul.<sup>98</sup>

A magnitude das resistências não é conhecida em muitas áreas do Mundo e muitas regiões estarão confrontadas com endemias e epidemias de TB MR e de TB ER, em que a resistência poderá ser alarmante. Portugal é um País com alta incidência e prevalência de TB, não havendo muitos dados, quanto à real prevalência destas formas graves e pouco ou nada se sabendo quanto à possibilidade da sua cura. Haverá sinais de poderem estar a crescer? Haverá evidência de terem crescido nos últimos anos? Portugal, em 2004, era o 4º país da União Europeia com a maior taxa de incidência de TB (33,7 casos/100.000 habitantes).<sup>99</sup> Nesse ano, 39% de todos os novos casos foram identificados na região de saúde de Lisboa e a grande maioria (72%), estavam associados, fundamentalmente, a três condições, isto é, infectados por VIH, toxicodependentes e imigrantes. Ainda, em 2004, as autoridades de saúde portuguesas, notificaram uma taxa de TB MR primária de 2,4% e de 6,7% entre os retratamentos.<sup>99</sup> Em 2007, Portugal era o País europeu com maior incidência de TB, isto é 27 casos novos, por 100.000 habitantes, mais do dobro da média da União Europeia,<sup>100</sup> e até esse ano, a incidência de TB MR manteve-se sem variação significativa e próxima de 2,1% entre os novos casos. Nesse período (2004-2007), aproximadamente, 22% dos casos, correspondiam a TB ER.<sup>100,101</sup> Em 2008, a incidência de novos casos de TB MR foi de 1,7% (22% em imigrantes e 29% em co-infectados por VIH) e no ano seguinte foi de 1,5% entre os novos casos e de 6,2% entre os casos previamente tratados, percentagens que são comparáveis às da União Europeia. Neste último ano, em Portugal, o sucesso terapêutico da TB MR foi de 56% e da TB ER de 48%.<sup>14</sup> Em 2011, a taxa de incidência de TB, no nosso País, foi de 21 casos novos, por 100.000 habitantes e a proporção com origem no estrangeiro foi de 16%, predominando doentes do Brasil, da Roménia e dos países africanos. Onze por cento dos casos ocorreram em co-infectados por VIH, concentrados, maioritariamente, em Lisboa e no Porto e a incidência de TB MR reportada, nesse ano, foi

de 1,3% entre os novos casos e de 8,2% nos retratamentos.<sup>16</sup> A percentagem de TB ER era elevada, apontada, em 2010, como sendo de 32%.<sup>14</sup> Em 2012, a taxa de incidência de TB em Portugal foi de 21,6 casos novos por 100.000 habitantes e a prevalência de infecção por VIH das mais altas da União Europeia (19,8%). A incidência registada de TB MR foi de 0,6% e a percentagem de TB ER foi de 20%, sendo 31,6% dos doentes cidadãos estrangeiros.<sup>15</sup> A incidência de TB MR notificada, nesse ano, foi inferior à da União Europeia e, praticamente, circunscrita às áreas metropolitanas do Porto e, sobretudo, de Lisboa (65% dos doentes), revelando-se, assim, com carácter endémico.<sup>15</sup>

Os números disponíveis, mesmo tendo em conta a conhecida subnotificação, parecem-nos muito aquém da realidade, quando se tem em linha de conta a nossa própria experiência hospitalar<sup>102,103</sup> e um estudo realizado na região de Lisboa,<sup>104</sup> incidindo sobre o ano de 2003, identificava uma prevalência de 11% de TB MR, a qual é, significativamente, mais alta, do que a notificada pelas autoridades portuguesas, para a mesma região e igual período e, por outro lado, mais alarmante ainda, 53% das estirpes estudadas, era de TB ER, o que é, substancialmente, mais elevado, do que o encontrado noutros países.<sup>85,92-94,104</sup> Estes indicadores, no seu conjunto, parecem apontar para uma avaliação desajustada da realidade no nosso País e na região de Lisboa, em particular.

Também não está clarificada a situação portuguesa, relativamente à origem e importação desta doença. A distinção entre membros do complexo *M. tuberculosis* não é uma simples curiosidade já que diferem na epidemiologia, na importância da doença no homem, na agressividade e na patogenicidade.<sup>105</sup> Os métodos de genotipagem molecular têm um papel importante no entendimento das vias de transmissão e de difusão mundial da TB MR e da TB ER<sup>106,107</sup> e permitem afirmar que há uma forte associação entre o país de origem do doente e a família de isolados multirresistentes. Por exemplo, a família Beijing de *M. tuberculosis*, altamente prevalente nos doentes nascidos na Ásia Oriental e nos países da antiga União Soviética,<sup>80,108,109</sup> de difícil tratamento e com mortalidade acima de 90% é a responsável pelo surto devastador de TB MR em Nova Iorque, nos anos 90 e tem sido considerada um problema emergente em TB, pela sua frequente associação com a MR.<sup>110-114</sup> Esta família Beijing espalhou-se pelos EUA<sup>115,116</sup> e por todo o Mundo, nos últimos anos, e representa, actualmente, um factor condutor da epidemia.<sup>80,117</sup> Poderão estas ou outras

estirpes importadas contribuir para a dimensão da nossa epidemia? Será possível relacioná-las com diferentes quadros clínicos?

Ora, a vigilância epidemiológica das estirpes multirresistentes é essencial, não só para informar da sua magnitude e das formas de transmissão, mas, também, para desenvolver orientações clínicas e normas terapêuticas e, ainda, programar atitudes.

A TB MR tem que ser diagnosticada atempadamente, antes de ser tratada eficazmente. Ela ocorre quando os antituberculosos são mal usados ou de má qualidade, quando foram mal prescritos (doses erradas ou por período insuficiente de tempo), quando os doentes não são, devidamente, vigiados, por forma a completarem o tratamento ou, ainda, quando o fornecimento dos medicamentos é errático. A diminuição da transmissão da infecção só é reduzida e, eventualmente, eliminada, se o doente for tratado adequadamente e em tempo útil.<sup>1,41</sup> Para isto, o regime terapêutico óptimo requer o conhecimento dos dados representativos da resistência global e dos padrões de resistência, em determinados grupos de doentes, da prevalência da resistência aos antituberculosos de 1ª e de 2ª linhas e da história do seu uso no país, na cidade e no próprio doente. Algumas publicações, sobre o assunto, apontam para diferentes padrões de resistência, com predomínio da resistência a todos os antituberculosos de 1ª linha.<sup>105,118</sup> Também, neste caso, é desejável que esta caracterização seja, cuidadosamente, definida.

A clínica não é diferente entre a TB sensível e a resistente e a identificação da bactéria na expectoração, também não distingue as duas formas de TB. Para se conhecer a susceptibilidade, a bactéria tem de ser cultivada e o diagnóstico final, em especial para a TB ER, pode levar seis a 16 semanas. Vários trabalhos evidenciam diversificadas apresentações clínicas, variadas formas de envolvimento extrapulmonar e diferentes padrões radiológicos, consoante se trate do imunocompetente ou do infectado por VIH,<sup>24,25,119-122</sup> mas nenhum estabelece se existem essas diferenças, no caso da TB MR e da TB ER, nem se elas existem, conforme se trate de infectado por vírus da imunodeficiência humana de tipo 1 (VIH-1) ou por vírus da imunodeficiência humana de tipo 2 (VIH-2). Por acaso, existem diferenças semiológicas, radiológicas ou mesmo de resposta ao tratamento, que possam levantar a suspeita de TB resistente? Porventura, há alguma especificidade nas formas extrapulmonares? Por outro lado, estão bem reconhecidas certas diferenças étnicas do



hospedeiro, nas apresentações clínicas da TB. Por exemplo, num estudo em Inglaterra e no País de Gales, metade dos casos de TB não pulmonar, ocorreu em doentes do subcontinente indiano, enquanto a TB geniturinária, foi cinco vezes mais frequente nos caucasianos.<sup>123</sup> Ainda, noutro exemplo, a TB pericárdica é rara nos países desenvolvidos, mas é uma importante causa de insuficiência cardíaca, na África Subsariana.<sup>124</sup> Estas diferenças ou outras, manter-se-ão na TB MR e na TB ER?

Na avaliação inicial do doente, qual é a probabilidade de se tratar de uma TB MR ou de uma TB ER? Se não há história de TB, no passado, nem de terapêutica antituberculosa e o teste de resistência, antes de qualquer tratamento, documenta resistência, considera-se que se trata de resistência primária. Se há história de TB prévia, se a repetição do teste de sensibilidade documenta resistência adicional e o teste genético confirma que é a mesma estirpe, considera-se como resistência adquirida. Tal é o resultado da aquisição sequencial de mutações, em alguns dos genes de *M. tuberculosis*, em consequência de um regime errado de antituberculosos ou de insuficiente adesão ao tratamento. A elevada carga bacilar nos co-infectados por *M. tuberculosis* e VIH favorece esta ocorrência.<sup>34,125</sup> Sempre que os antituberculosos forem mal usados, a probabilidade de TB MR ou de TB ER é real, mas não existem resultados de estudos que documentem, definitivamente, se ela é, essencialmente, primária ou adquirida, ou seja, é importante o conhecimento de que a prevalência de TB MR e de TB ER resulta, fundamentalmente, de má adesão à terapêutica ou de transmissão activa na comunidade. Por outro lado, se a genotipagem confirmasse uma estirpe diferente, então poderia considerar-se reinfecção.

As estirpes pertencentes à família Lisboa, caracterizadas há alguns anos, e que estiveram envolvidas na primeira epidemia nosocomial de TB MR em infectados por VIH, descrita em Portugal,<sup>102,118,126-129</sup> ainda são as responsáveis pela maioria dos casos actuais de TB MR, parecendo que, desde então, têm vindo a acumular resistências.<sup>104,130</sup> Mas não haverá outras estirpes? Nessa primeira epidemia, num doente, o caso índice, foi possível identificar infecção concomitante por duas estirpes diferentes.<sup>102</sup> O estudo epidemiológico das estirpes multirresistentes é necessário, para entender a transmissão e o modo de desenvolvimento das resistências e, ainda, para confirmar a reinfecção.

Ainda que, temporalmente, não seja possível documentar a resistência adquirida, por falta de monitorização continuada ou por ausência de manifestações clínicas, no período em que esteja a decorrer o estudo, a eventual identificação de estirpes diferentes, num mesmo doente, em amostras do mesmo ou de diferentes locais anatómicos, permite afirmar a reinfecção.<sup>131</sup> Taxas elevadas de reinfecção têm, de certo, um contributo importante para a manutenção da epidemia e podem implicar apresentações clínicas distintas. Aquelas taxas serão idênticas no infectado por VIH e no imunocompetente? Muitos doentes, estarão simultaneamente, infectados por diferentes estirpes? A reinfecção terá papel importante na manutenção do ciclo infeccioso da TB, na comunidade, e terá um desempenho importante para a incidência e prevalência da TB ou a reinfecção é rara?

Tal como aconteceu em Lisboa,<sup>102</sup> também outras epidemias nosocomiais de TB MR foram documentadas em infectados por VIH<sup>54,58-60,68,72,132</sup> e, em algumas áreas, este é apontado, como um factor de risco para esta forma de TB, juntamente com a toxicodependência e a insuficiente adesão ao tratamento antituberculoso.<sup>41,85</sup> Mas serão estes ou a importação de estirpes os únicos factores de risco, para a emergência de resistências? A intolerância aos antituberculosos poderá ser, também, responsabilizada, por insuficiente adesão e por uma fatia de resistências adquiridas, ou a não adesão é uma questão puramente comportamental?<sup>133</sup> Este assunto, intimamente ligado ao sucesso ou ao insucesso terapêutico, não está clarificado. Também, neste caso, podem existir diferenças, no que diz respeito à tolerância entre seropositivos e seronegativos para VIH. O desenvolvimento de resistências limita, progressivamente, as opções terapêuticas, implicando o recurso sucessivo a fármacos de 2ª linha, que são menos eficazes e com mais efeitos adversos, exigindo tratamento mais prolongado. Os doentes têm, assim, também, maior probabilidade de insuficiente adesão, de falência terapêutica e de evoluírem para a morte. Portanto, importa confirmar quer a taxa de sucesso, quer reconhecer qual é a causa do insucesso, isto é se por insuficiente eficácia dos antituberculosos ou se pelos seus efeitos adversos, tornando-os intoleráveis e dificultando a adesão.

Importa, não só definir o esquema terapêutico mais seguro, isto é aquele que dá mais garantias de adesão, mas, também, o mais eficaz, isto é aquele que possa permitir a negatificação mais rápida e duradoira de *M. tuberculosis* na expectoração, reduzindo a infecciosidade. Sobre a eficácia do tratamento e a tolerância aos antituberculosos e sobre o

seu real impacto na evolução e no prognóstico são escassos os estudos e, para alguns, como é o caso da linezolid (LZD), a eficácia e a duração da terapêutica são, ainda, desconhecidas.<sup>134-136</sup> Uma melhor avaliação poderá ajudar a definir o melhor esquema de terapêutica empírica, em caso de suspeita de TB MR ou de TB ER.

Até 2012, um total de 107 países notificaram a OMS dos resultados de mais de 34.000 casos de TB MR, sendo de 48% aqueles que completaram, com sucesso, o tratamento iniciado em 2010. Também, numa subanálise de 795 doentes com TB ER em 26 países, o sucesso do tratamento não foi além de 20%.<sup>2</sup> Vários países, com bons programas de controlo da TB, demonstraram que a cura é possível, para 30% dos doentes com TB ER, mas dependendo da extensão das resistências, da gravidade da doença e da presença ou não de imunodepressão. Um estudo na Alemanha, por exemplo, indicou taxas de sucesso para a TB MR e ER, respectivamente de 59% e 57%.<sup>137</sup> Muito provavelmente, existem diferenças na resposta ao tratamento, na tolerabilidade, na evolução para a cura e na mortalidade, entre seropositivos e seronegativos para VIH e entre a TB MR e a TB ER, todavia, não estão, ainda, devidamente, caracterizadas. Importa definir, se a TB MR pode ser tratada, se a TB ER, mesmo assim, pode ser curada e se a coinfeção com VIH pode afectar os resultados. Importa investigar se estirpes diferentes têm respostas diversas à terapêutica antibacilar e se algum genotipo predispõe para maior toxicidade, por parte dos antibacilares.

Se bem que a terapêutica antirretrovírica (TARV) tenha reduzido a incidência de TB activa, nos infectados por VIH, o risco dela ocorrer, ainda é cinco vezes superior ao dos seronegativos,<sup>138-143</sup> e se bem que a mortalidade e o prognóstico da TB sensível melhorem, com a combinação do tratamento antibacilar e antirretrovírico, também é menos provável que tal aconteça, em doentes com TB resistente.<sup>144-146</sup> No caso do infectado por VIH, a associação dos antirretrovíricos (ARV) com o tratamento empírico da TB MR poderá ajudar à cura? A presumível sobreposição de toxicidades, tornará a associação das duas terapêuticas inexequível?

Até à data, o momento ideal para se dar início à TARV, em doentes com TB activa, é, ainda, controverso. Os problemas de adesão, os efeitos adversos e a síndrome de reconstituição imunitária (SRI)<sup>147-155</sup> constituem objecções ao tratamento concomitante da infecção por VIH com o tratamento antibacilar, mas protelar o seu início, pode aumentar o risco de

infecções oportunistas. O estudo destes acontecimentos e do papel da TARV podem contribuir para diminuir a mortalidade, neste grupo de doentes.<sup>156-158</sup>

A resistência aos antituberculosos tem sido estudada desde os anos 40 e os princípios para a conter estão divulgados desde há mais de 20 anos,<sup>159</sup> contudo, em países de recursos limitados, com alta prevalência de TB e de infecção por VIH, mais de 90% dos que têm TB MR ou TB ER não são diagnosticados.<sup>2,8,160,161</sup> Também, em todo o Mundo, apenas 0,5% daqueles com o diagnóstico de novo de TB MR, recebem o tratamento adequado,<sup>3</sup> continuando a alimentar a pandemia, que inclui, agora, estirpes resistentes à maioria das classes de antituberculosos testadas.<sup>97,162</sup>

A dupla epidemia de TB (MR e ER) e de infecção por VIH é um grave problema de Saúde Pública<sup>163,164</sup> e só pode ser controlado com esforços combinados e coordenados de luta contra as duas infecções, numa boa articulação dos organismos e das estruturas de saúde envolvidas e com avaliação igualmente coordenada, dos resultados. Para ambas as infecções e enquanto se aguardam vacinas eficazes, exige-se diagnóstico precoce, tratamento correcto, disponibilização universal da medicação e boa adesão à mesma. Na TB (MR e ER) ambicionam-se fármacos mais activos e meios de diagnóstico mais rápidos e na infecção por VIH os esforços devem concentrar-se na prevenção e na modificação de comportamentos, para redução da sua transmissão.

A intervenção rápida nesta situação grave é crucial, com atenção especial aos recursos a disponibilizar nas regiões do globo mais desfavorecidas. Para que esta luta tenha sucesso, não deverão ser esquecidas as medidas de combate à pobreza e à exclusão social.

## 2. OBJECTIVOS

### 2.1. OBJECTIVOS PRINCIPAIS

1. Avaliar a incidência, a prevalência e a tendência evolutiva, da TB MR e da TB ER, entre a totalidade de doentes com TB, assistidos num Serviço de Doenças infecciosas, entre os anos de 1993 e 2012.
2. Avaliar o impacto que a infecção por VIH tem na incidência e na prevalência da TB MR e da TB ER, na globalidade daquela população com TB.
3. Clarificar a demografia (idade, sexo, raça, nacionalidade), a epidemiologia e a origem geográfica dos doentes, quantificando a contribuição de determinados grupos populacionais (por exemplo toxicodependentes e imigrantes), para a epidemia.
4. Identificar e diferenciar as apresentações clínicas pulmonares e extrapulmonares da TB MR e da TB ER, em seropositivos e seronegativos para VIH.
5. Estudar os padrões de resistência aos antituberculosos, nos doentes com TB MR e TB ER.
6. Avaliar o papel da MR primária e da MR adquirida, na prevalência da TB MR e da TB ER.
7. Identificar por genotipagem as estirpes de *M. tuberculosis* responsáveis pela TB MR E TB ER e, caracterizá-las quanto ao seu comportamento clínico e prognóstico.

### 2.2. OBJECTIVOS SECUNDÁRIOS

1. Investigar a contribuição da reinfeção e da co-infecção por diferentes estirpes de *M. tuberculosis*, na epidemia de TB.
2. Determinar a eficácia da terapêutica, na TB MR e na TB ER, em infectados por VIH e em imunocompetentes.
3. Determinar os efeitos adversos (ou colaterais) da terapêutica antituberculosa e, a sua contribuição para o insucesso do tratamento, na TB MR e na TB ER.
4. Avaliar o impacto da TARV, em simultâneo com a terapêutica antibacilar, no prognóstico da TB MR e da TB ER.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

- 1- Foi realizado um estudo transversal, com desenho misto, inicialmente retrospectivo e, posteriormente, prospectivo, com inclusão de todos os doentes com TB MR e TB ER internados num Hospital Central de Lisboa - Serviço de Doenças Infecciosas do HCC, o qual por dispor de quartos de isolamento respiratório de rigor (unidades individuais com porta dupla, pressão negativa e filtração de ar), é Centro de Referência para doentes com TB do distrito de Lisboa. Entre 1 de Janeiro de 1993 e 31 de Dezembro de 2012, foram identificados os casos de TB MR e de TB ER a estudar. A incidência anual foi calculada dividindo o número anual de novos doentes internados, com TB MR e TB ER, pelo total anual de novos casos de TB, internados no Serviço. A prevalência global, foi calculada, dividindo o total de casos de TB MR e TB ER, pelo total de casos de TB internados. Para o estudo retrospectivo e prospectivo, tendo como ponto de partida o diagnóstico de TB MR e de TB ER, foram identificadas e diferenciadas as apresentações clínicas pulmonares e extrapulmonares, avaliados os padrões de resistência aos antituberculosos e estudados os objectivos secundários, em seropositivos e seronegativos para VIH. Para efeitos de análise comparativa, os dois grupos foram, ainda, subdivididos em: a) Nunca tratados para TB; b) previamente tratados para TB sensível.
- 2- Do processo clínico dos doentes foi retirada a informação essencial para o estudo (tabela 1). A tuberculose foi classificada, de acordo com os critérios definidos pela OMS,<sup>4,5,8,165</sup> em pulmonar (havendo envolvimento do parênquima pulmonar, mesmo que, com envolvimento de outro órgão) e em extrapulmonar (havendo envolvimento de outro órgão, que não o pulmão). Considerou-se como TB disseminada, a TB miliar ou o envolvimento simultâneo de, pelo menos, dois órgãos não contíguos.

**Tabela 1 - Informação recolhida do processo clínico dos doentes**

<b>EPIDEMIOLOGIA</b>
Ano de diagnóstico
Idade, sexo, raça, nacionalidade
Factores de risco
História de tratamento prévio
<b>CLÍNICA E DIAGNÓSTICO</b>
Sintomas e sinais
Exames laboratoriais de rotina
Seropositividade para VIH e contagem de linfócitos TCD4 <sup>+</sup>
Padrões imagiológicos
Exames microbiológicos
Padrões de resistência aos antituberculosos
Tempo para o diagnóstico
<b>TERAPÊUTICA</b>
Terapêutica antituberculosa e antirretrovírica
Adesão
Reacções adversas
<b>EVOLUÇÃO</b>
Taxas de cura
Mortalidade e sobrevivência

- 3- A pesquisa de anticorpos anti-VIH (métodos Elisa e Western blot) foi realizada em todos os doentes com o diagnóstico de TB. A contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> foi determinada em todos os seropositivos para a infecção por VIH (confirmada). Estes e outros exames laboratoriais, considerados de rotina, foram efectuados no Serviço de Patologia Clínica do HCC. Os exames imagiológicos e histológicos, necessários ao estudo, foram efectuados, respectivamente, nos Serviços de Radiologia e de Anatomia Patológica, do mesmo Hospital.
- 4- A preceder o início do tratamento, o diagnóstico de TB foi estabelecido, em todos os doentes, pela identificação de bacilos ácido-álcool resistentes (BAAR), em exame directo (coloração de Ziehl-Neelsen) e/ou por isolamento de *M. tuberculosis*, em exame cultural, a partir de, pelo menos, um número igual de amostras de fluidos (sangue, expectoração, secreções brônquicas, lavado broncoalveolar (LBA), líquido ascítico, pleural, pericárdico, suco gástrico, líquor e urina) ou de tecidos (medula óssea, hepático, cutâneo, ganglionar e ósseo). Para a quantificação bacilar no exame directo



definiu-se “muitos bacilos” pela identificação de 10 ou mais BAAR/campo, “alguns bacilos” pela identificação de 1-10 BAAR/10 campos e, “raros bacilos” pela identificação de 1-10 BAAR/100 campos. Os estudos microbiológicos foram efectuados no Laboratório de Bacteriologia, do Serviço de Patologia Clínica, do HCC e repetidos, periodicamente, durante o tratamento, permitindo, assim, o cálculo do tempo até à sua negatificação.

- 5- Todas as amostras foram cultivadas para micobactérias, em meio sólido de Lowenstein-Jensen, até 1995, e, a partir deste ano, também, em meio líquido de Bactec 460 TB (*Becton Dickinson Diagnostic Instruments Systems®*, Towson, MD, USA) de detecção radiométrica, o qual foi substituído, em 2010, pelo meio líquido de Bactec MGIT 960 (*Becton Dickinson Microbiology Systems®*, Sparks, MD, USA), de detecção fluorimétrica. Em todas as estirpes de *M. tuberculosis* foi feita a caracterização fenotípica das resistências, com avaliação dos padrões de sensibilidade/resistência aos antituberculosos de 1ª linha e, nas estirpes multirresistentes, com avaliação dos padrões de sensibilidade/resistência aos antituberculosos de 2ª linha (nestas últimas, por rotina, a partir do ano 2000). Para a realização dos antibiogramas, segundo o método das proporções, utilizou-se o meio sólido de Middlebrook 7H11, em 1993 e em 1994, o meio líquido de Bactec 460 TB, de detecção radiométrica, de 1995 a 2010, e a partir desta data, o meio líquido de Bactec MGIT 960, de detecção fluorimétrica. No meio sólido de Middlebrook 7H11, para a avaliação das sensibilidades, utilizaram-se os seguintes fármacos (disponíveis no mercado) e respectivas concentrações - INH (0,2 µg/ml e 0,5 µg/ml), RMP (1,0 µg/ml), SM (2,0 µg/ml), EMB (7,5 µg/ml), etionamida (ETO) - 10,0 µg/ml, cicloserina (CS) - 50 µg/ml e ácido para-aminosalicílico (PAS) - 0.5 µg/ml. No meio de Bactec 460 TB utilizaram-se INH (0,1 µg/ml), RMP (2 µg/ml), SM (2 µg/ml e 6 µg/ml), EMB (2,5 µg/ml e 7,5 µg/ml), pirazinamida (PZA) - 100 µg/ml, CM (1,25 µg/ml), AM (1,0 µg/ml), KM (5,0 µg/ml), ofloxacina (OFX) - 2,0 µg/ml, esparfloxacina (SFX) - 0,4 µg/ml, rifabutina (RFB) - 0,5 µg/ml, ETO (1,25 µg/ml), clofazimina (CFZ) - 0,5 µg/ml, PAS (4,0 µg/ml) e ciprofloxacina (CFX) - 0,5 µg/ml e 1,0 µg/ml. No meio de Bactec MGIT 960 utilizaram-se INH (0,1 µg/ml), RMP (1,0 µg/ml), SM (1,0 µg/ml), EMB (5 µg/ml), PZA (100 µg/ml), ETO (5,0 µg/ml), OFX (2,0 µg/ml), CM (1,25 µg/ml), AM (1,0 µg/ml), LZD (1,0 µg/ml) e moxifloxacina (MFX) - 0,25 µg/ml. Estes

estudos, de avaliação das sensibilidades/resistências aos antituberculosos de 1ª linha e aos antituberculosos de 2ª linha, foram realizados, respectivamente, no Laboratório de Patologia Clínica, do HCC e no Laboratório de Micobactérias do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge ou no Centro de Patogénese Molecular (Unidade dos Retrovírus e Infecções Associadas) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Tal como foi referido, definiu-se TB MR, como aquela em que o agente foi resistente, pelo menos, à INH e à RMP e TB ER, como TB MR, acrescida de resistência a qualquer fluoroquinolona e a, pelo menos, um dos antituberculosos injectáveis de 2ª linha (CM, KM e AM). Definiu-se ainda TB TR, como aquela em que o agente mostrou resistência *in vitro* a todos os antituberculosos de 1ª e 2ª linha testados.<sup>166,167</sup> Resistência primária ou entre novos casos<sup>34,168</sup> foi definida como a presença de resistência a um ou mais fármacos antituberculosos, num doente com TB, que nunca recebeu tratamento prévio. Resistência adquirida ou entre casos previamente tratados (ou secundária)<sup>34,35,168</sup> foi definida como resistência a um ou mais fármacos antituberculosos, resultante de terapêutica antituberculosa insuficiente ou inapropriada, por má adesão, por má absorção dos fármacos ou por erro de prescrição.

- 6- Foram analisados os regimes terapêuticos instituídos empiricamente, antes do conhecimento do padrão de sensibilidades ou introduzidos, empiricamente, por suspeita clínica de TB MR ou de TB ER, bem como as alterações impostas pelos resultados dos testes de sensibilidade e as respectivas implicações na evolução da doença.
- 7- A partir das culturas disponíveis, provenientes de amostras de diferentes fluidos/tecidos, fez-se a caracterização genética de estirpes de *M. tuberculosis* multirresistentes e extensivamente resistentes, investigando-se a origem e a evolução temporal dos isolados. A tipificação das estirpes (identificação molecular) foi feita até 2002, pelo método de *restriction fragment length polymorphism*, seguido de hibridização com a sequência de inserção 6110 (RFLP-IS6110)<sup>18,106,169-173</sup> e de 2003 em diante, pelo método de *mycobacterial interspersed repetitive units-variable number of tandem repeats* (MIRU-VNTR).<sup>174-177</sup> Cluster foi definido como dois ou mais isolados, com padrões de RFLP-IS6110 diferindo em uma ou duas bandas, ou como dois ou mais

isolados com perfis semelhantes pelo método MIRU-VNTR. Família foi definida como um grupo de isolados com homologia acima de 90%.<sup>171,178</sup> Na passagem de RFLP-IS6110 para MIRU-VNTR foi testada a equiparação das técnicas. Estes estudos moleculares foram efectuados, também, no Centro de Patogénese Molecular (Unidade dos Retrovírus e Infecções Associadas) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Pela genotipagem de estirpes do mesmo doente, mas provenientes de diferentes fluidos corporais avaliou-se a possibilidade de reinfeção ou de co-infecção. De acordo com os genotipos identificados, foram diferenciadas as características epidemiológicas, clínicas, de diagnóstico, da resposta à terapêutica e de evolução.

- 8- Foram revistos e quantificados os casos de toxicidade terapêutica e/ou de má adesão, na interrupção do tratamento e, em consequência, a sua influência no desenvolvimento de resistências. A toxicidade da terapêutica antibacilar foi definida pela ocorrência de alterações cutâneas, gastrintestinais ou das provas de função hepática, que não estavam presentes no momento do início do tratamento e que quando surgiram, determinaram a interrupção ou paragem de algum ou de todos os fármacos. A má adesão foi definida como a ocorrência, por decisão voluntária do doente, de interrupção temporária ou de abandono definitivo da terapêutica em qualquer momento do tratamento ou, de toma completa mas irregular da medicação prescrita e, a boa adesão, pela ausência de qualquer destes comportamentos. Ambos os indicadores (toxicidade e adesão) foram monitorizados durante o internamento e no acompanhamento em ambulatório, no respectivo Centro de Diagnóstico Pneumológico.
- 9- Finalmente, foi feita a análise comparativa, por grupo e por subgrupo, dos sinais e sintomas de diferenciação, dos padrões radiológicos característicos, dos padrões de resistência prevalentes e, de acordo com estes, das taxas de cura, de falência terapêutica ou de morte. O doente foi considerado como curado, quando após ter completado um regime adequado de tratamento (mínimo de 18 ou 24 meses após última cultura positiva) os sintomas desapareceram (cura clínica) e *M. tuberculosis* deixou de ser identificado, na mesma amostra, em que fora isolado previamente (cura microbiológica). A morte foi considerada relacionada com a TB, quando não havia cura clínica e/ou microbiológica no momento em que ocorreu e, a história clínica excluía

outras co-morbilidades. Definiu-se falência terapêutica como a ocorrência de expectorações persistentemente positivas apesar do tratamento e definiu-se tratamento completo, quando o protocolo terapêutico foi cumprido, mas não havia, ainda, critérios de cura.<sup>78,179-181</sup> Considerou-se como tempo mediano de sobrevivência, aquele que decorreu entre a data do diagnóstico e a data da morte ou, a data de 31 de Dezembro de 2012, para os que se encontravam vivos.

## 4. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

A caracterização demográfica e clínica dos doentes foi obtida por estatísticas descritivas, usando frequências absolutas e relativas (em percentagem), para variáveis categóricas, e médias, desvio padrão (DP), ou medianas, intervalo inter-quartil (IIQ) para variáveis contínuas, com distribuições normais ou enviesadas, respectivamente. Para a comparação das características demográficas e clínicas dos doentes com TB MR e TB ER foram utilizados testes exactos de Fisher para as variáveis categóricas e testes de ANOVA, para as variáveis contínuas. Para as variáveis com uma distribuição enviesada, foram confirmados os resultados da ANOVA, com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. As características sociodemográficas dos doentes foram, também, comparadas entre o tipo de TB (MR ou ER), usando testes bilaterais T-Student (e de Mann-Whitney-Wilcoxon para confirmação nas variáveis não normalmente distribuídas).

No intuito de investigar quais as características demográficas e clínicas dos doentes, foi feita uma análise de regressão logística, de modo univariado e ajustando os diversos factores para o tipo de TB. Para a escolha do melhor modelo foi usado o método *forward* de selecção das variáveis. Para as variáveis com uma distribuição mais enviesada foi utilizada a transformação logarítmica. Para todos os testes foi utilizado um nível de significância de 5% e intervalos de confiança a 95% e o programa estatístico usado foi o STATA SE 10. Na análise de sobrevivência utilizou-se o estimador de Kaplan-Meier e, na comparação das curvas de sobrevivência o teste de Log-rank com nível de significância de 5%.



## 5. RESULTADOS

### 5.1. ANÁLISE GLOBAL DA AMOSTRA

Foram identificados e estudados 311 doentes com TB MR ou TB ER, internados no Serviço de Doenças Infecciosas do HCC, entre os anos de 1993 e 2012, correspondendo a uma prevalência global de 12,7% num total de 2.447 doentes com TB, dos quais 1.491 (60,9%) com infecção por VIH e 956 (39,1%) imunocompetentes.

A figura 1 mostra a distribuição e a incidência anuais, de novos doentes com TB MR ou TB ER, tendo-se registado um maior número de casos nos anos de 1995 e de 1996, com 39 e 60 casos/ano, respectivamente. A incidência média anual foi de 11,2% (com um DP de 6,7%) e mediana de 9,6%, tendo sido inferior a 6,9% em cerca de um quarto dos anos em estudo. O ano de 1994 foi aquele em que se observou uma incidência média mais baixa, de 3,3%, contrastando com os anos de 1995 e 1996, em que se observaram picos de incidência de 24,7% e de 27,8%, respectivamente.

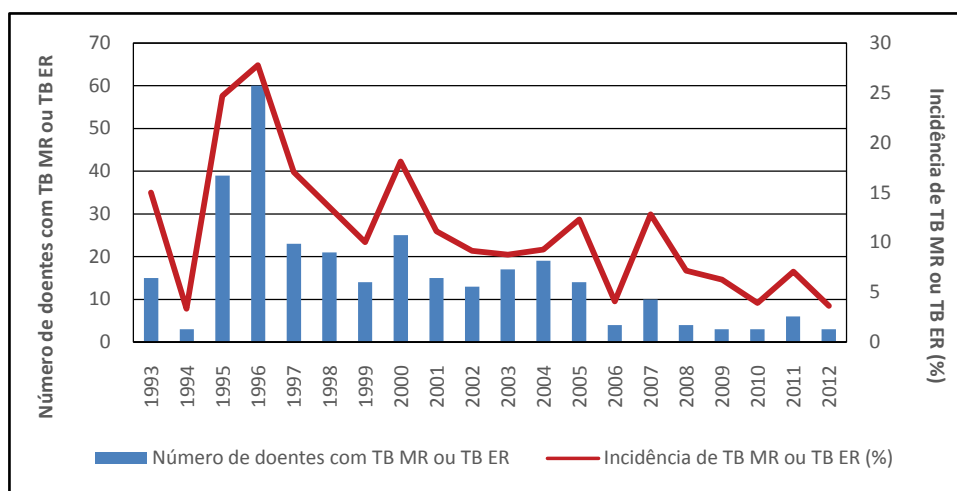


Figura 1 - Distribuição e incidência anuais de novos doentes com TB MR ou TB ER (1993 a 2012)

Como está registado na tabela 2, dos 311 doentes que constituem a amostra, a maioria tinha nacionalidade portuguesa (251 doentes, que representam 80,7% dos casos), sendo dos restantes, 51 (16,4%) provenientes de África, seis (1,8%) provenientes da Europa e três (0,9%) de outras regiões.

**Tabela 2 - Proveniência dos 311 doentes com TB MR ou TB ER<sup>1</sup>**

Nacionalidade	n	%
Portugal	251	80,7
Cabo Verde	20	6,4
Angola	13	4,2
Guiné	10	3,2
São Tomé e Príncipe	5	1,6
Moçambique	3	1,0
Espanha	1	0,3
França	1	0,3
Moldávia	1	0,3
Rússia	1	0,3
Turquia	1	0,3
Ucrânia	1	0,3
Timor	1	0,3
Brasil	1	0,3
Venezuela	1	0,3
<b>Total</b>	<b>311</b>	<b>100,0</b>

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

No que respeita ao local de residência, 307 (98,7%) tinham domicílio permanente em Portugal havia mais de 20 anos e quatro (1,3%) tinham morada fixa fora do País (três em Angola e um em São Tomé e Príncipe). Embora vivendo em Portugal, 28 doentes (9,0%) referiam residência temporária ou estadia recente (há menos de 10 anos) em diversas áreas ou regiões onde a TB é importante problema de Saúde Pública, nomeadamente em Angola (10 doentes), Cabo Verde e Guiné (ambos com cinco doentes), São Tomé e Príncipe (dois doentes) e, ainda, África do Sul, Brasil, Curdistão, Timor, Ucrânia e Zaire (todos com um doente). Ou seja, do total de doentes com TB MR ou TB ER, apenas 32 (10,3%) tinham ligação epidemiológica a outros países, com prevalência elevada de TB (28 de forma ocasional e quatro de forma permanente).

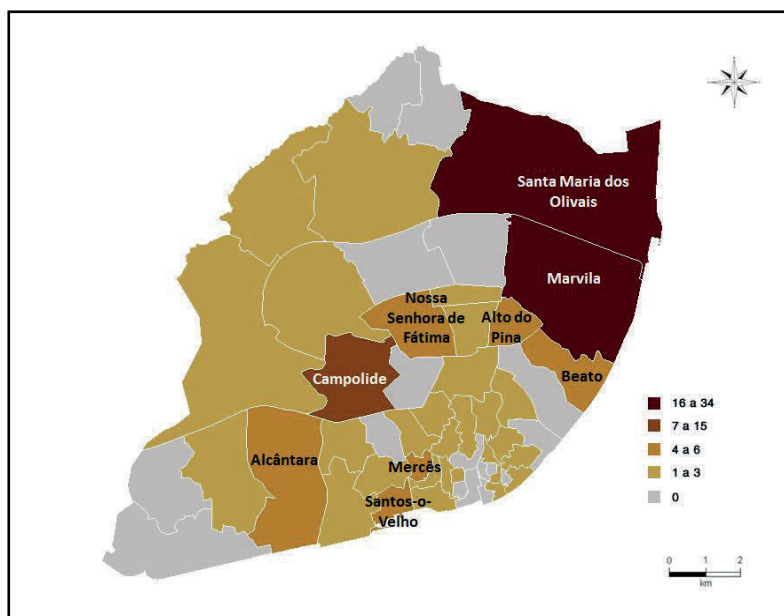
Dos 307 doentes (98,7%) sempre residentes em Portugal, 278 (90,6%) referiam a morada no distrito de Lisboa, 11 (3,6%) no distrito de Setúbal, oito (2,6%) no distrito de Leiria, quatro (1,3%) em outras regiões de Portugal e em seis (1,9%), por serem sem abrigo, não se conseguiu averiguar a sua residência.

---

<sup>1</sup> Nota metodológica - convencionou-se que todos os valores que constam no presente relatório seriam arredondados a uma casa decimal, o que permite uma leitura mais simplificada dos números apresentados. Esta convenção pode ter como resultado que a soma das percentagens seja ligeiramente inferior ou superior a 100%, como consequência do arredondamento, sem prejuízo para o rigor dos dados apresentados.



Dos 278 residentes no distrito de Lisboa, 184 (66,2%) viviam na área metropolitana de Lisboa, 67 (24,1%) viviam nos concelhos de Loures, Odivelas e Vila Franca de Xira e 27 (9,7%) viviam nos concelhos de Sintra, Cascais, Oeiras e Amadora.



**Figura 2** - Distribuição espacial de casos de TB MR e ER pelas freguesias da cidade de Lisboa

Na área metropolitana de Lisboa (figura 2), o maior número de doentes residia nas freguesias de Olivais (34), de Marvila (33), de Campolide (nove), de Alcântara e do Beato (com seis doentes cada), de Nossa Senhora de Fátima (cinco), e nas freguesias do Alto do Pina, Mercês e Santos-o-Velho (com quatro doentes cada). Parece haver maior concentração de doentes na zona norte e oriental da cidade de Lisboa, bem como na zona envolvente do antigo Casal Ventoso (Campolide e Alcântara – 15 doentes). Trinta e três doentes (17,9%), a residir na área metropolitana de Lisboa, estavam institucionalizados em albergues, em prisões ou em centros de recuperação (seis por serem, anteriormente, sem abrigo) e 13 (7,0%) viviam sem abrigo desde há vários anos.

As principais características sociodemográficas dos doentes encontram-se discriminadas na tabela 3 e na figura 3. Na globalidade, os doentes tinham, em média, 37 anos (com um DP de 11,0). A mediana das idades situou-se nos 35 anos e cerca de um quarto dos doentes da amostra tinha mais de 42 anos. O doente mais novo tinha 19 anos e o mais idoso 91 anos (como pode ser verificado na figura 3). A maioria era do sexo masculino (85,2%) e de raça caucasiana (86,2%), sendo, apenas, 13,8% de raça negra. Cento e vinte e sete doentes (40,8%) tinham hábitos alcoólicos acentuados, definidos como consumos superiores a 60

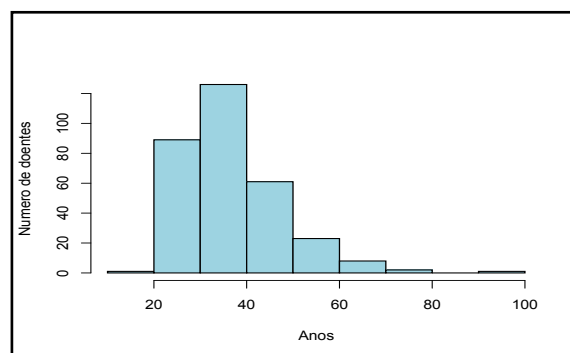
g/dia e 221 (71,1%) tinham hábitos tabágicos excessivos, fixados como superiores a 20 unidades/maço/ano.

Relativamente à actividade profissional, 125 (40,2%) tinham profissão e vida activas, 149 (47,9%) estavam desempregados e sem qualquer actividade ocupacional, 23 (7,4%) eram reformados, oito (2,6%) eram estudantes e seis mulheres (1,9%) eram domésticas.

**Tabela 3 - Características sociodemográficas dos 311 doentes com TB MR ou TB ER**

Características	n	%
Institucionalizado	33	10,6
Sem abrigo	19	6,1
Sexo masculino	265	85,2
Raça caucasiana	268	86,2
Hábitos alcoólicos	127	40,8
Hábitos tabágicos	221	71,1
Empregado	125	40,2
Desempregado	149	47,9
Outros	37	11,9

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens



**Figura 3 - Histograma das idades dos doentes com TB MR ou TB ER**

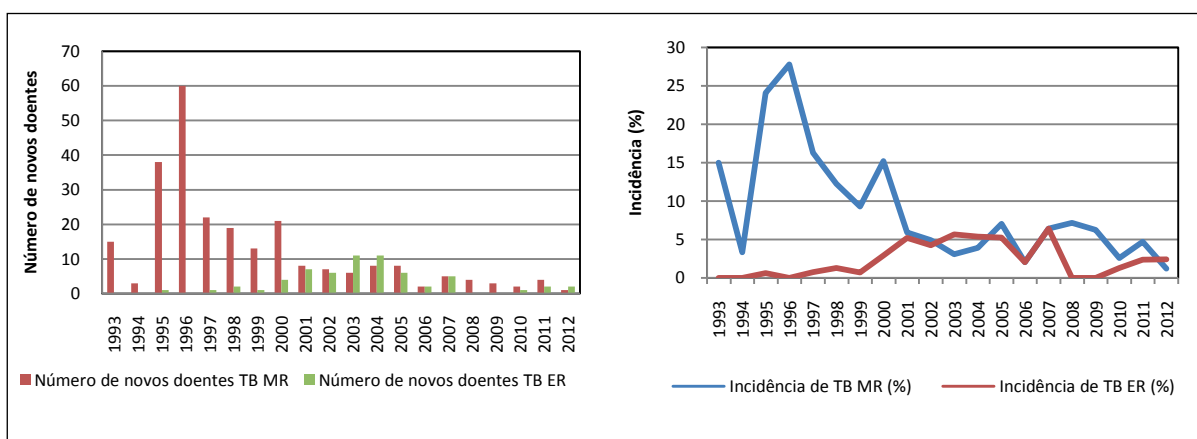
Quanto aos doentes com profissão e vida activas e servindo-nos da classificação utilizada pelo Instituto Nacional de Estatística (tabela 4), verificou-se que as classes profissionais mais frequentes eram a de “Operadores, artífices e trabalhadores similares” (44,8%), a de “Operadores de instalações e máquinas e trabalhadores da montagem” (16,0%), a de “Pessoal dos serviços e vendedores” (16,0%) e a de “Especialistas com profissões intelectuais e científicas” (8,0%).

**Tabela 4 - Profissão dos doentes com TB MR ou TB ER**

Profissão	Total ( <i>n</i> = 311)		População activa ( <i>n</i> = 125)
	n	%	%
Operários, artífices e trabalhadores similares	56	18,0	44,8
Operadores de instalações e máquinas e trabalhadores da montagem	20	6,4	16,0
Pessoal dos serviços e vendedores	20	6,4	16,0
Especialistas com profissões intelectuais e científicas	10	3,2	8,0
Trabalhadores não qualificados	7	2,3	5,6
Pessoal administrativo e similares	5	1,6	4,0
Técnicos e profissionais de nível intermédio	4	1,3	3,2
Agricultores e trabalhadores qualificados da agricultura e pescas	2	0,6	1,6
Quadros superiores da administração pública, dirigentes e quadros superiores de empresas	1	0,3	0,8
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>40,2</b>	<b>100,0</b>

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Duzentos e quarenta e nove doentes (80,1%) tinham TB MR e 62 (19,9%) TB ER. Na figura 4 apresenta-se a distribuição e a incidência anuais dos novos doentes com TB MR ou TB ER. A incidência média anual de casos de TB MR foi de 12,5% (DP de 14,4%) e mediana de 7,5% (IIQ = 3,8%-19,5%) e a incidência média anual de casos de TB ER foi de 3,1% (DP de 3,5%) e mediana de 2,0% (IIQ = 0,8%-6,0%). É de notar que o número máximo de casos de TB MR é atingido em 1996, com 60 casos (incidência anual de 27,8%), ano em que não há registo de casos de TB ER, enquanto o número máximo de casos de TB ER é atingido em 2003 e 2004 com 11 casos (incidência anual de 5,7% em cada um dos anos).



**Figura 4 - Distribuição anual de novos doentes (à esquerda) e incidência anual (à direita), conforme TB MR ou TB ER**

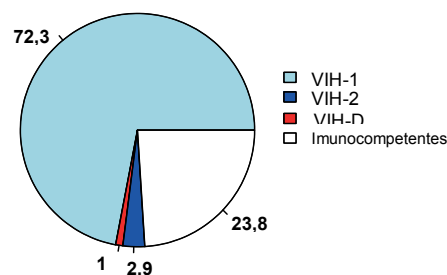
Cento e cinquenta e quatro doentes (49,5%) não referiam TB prévia ao diagnóstico de TB MR ou ER, enquanto que 157 (50,5%) referiam história anterior de TB sensível aos antibacilares (documentada por testes de sensibilidade aos antituberculosos de 1ª linha). Destes, 35 (22,3%) tinham completado o tratamento para a TB sensível e tinham sido considerados curados há mais de quatro anos (média de 12 anos), pelo que a TB MR ou ER não era relacionável, enquanto os restantes 122 (77,7%) tinham interrompido ou não tinham completado o tratamento da TB sensível.

No que diz respeito à localização da TB MR e da TB ER, 292 doentes (93,9%) tinham TB pulmonar, definida, como qualquer caso de TB, com envolvimento do parênquima pulmonar e, apenas, 19 (6,1%), tinham TB extrapulmonar, definida, como caso de TB com atingimento de qualquer órgão, exceptuando pulmão. Cento e vinte e um doentes (38,9%), embora com TB definida como pulmonar, também apresentavam, concomitantemente, envolvimento extrapulmonar (tabela 5).

**Tabela 5 - Principais características epidemiológicas e clínicas dos 311 doentes com TB MR ou TB ER**

Características	n	%
Co-infectados:	237	76,2
VIH-1	225	72,3
VIH-2	9	2,9
VIH-D	3	1,0
Imunocompetentes	74	23,8
TB prévia sensível	157	50,5
TB pulmonar	292	93,9
TB extrapulmonar	19	6,1
TB MR	249	80,1
TB ER	62	19,9

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens



**Figura 5 - Distribuição percentual da TB MR e da TB ER, por doentes co-infectados por VIH e por imunocompetentes**

Para posterior caracterização e comparação, os 311 doentes do estudo foram divididos por dois grupos, conforme estivessem (ou não) infectados por VIH. Duzentos e trinta e sete (76,2%) dos doentes, com TB MR ou TB ER, estavam co-infectados por VIH e 74 (23,8%) não, estes últimos designados, para a análise, como imunocompetentes, por não apresentarem nenhuma imunodeficiência, nem estarem, à data do diagnóstico de TB MR ou de TB ER, sob tratamento imunossupressor. Do total de co-infectados por VIH, 225 tinham infecção por VIH-1, nove infecção por VIH-2 e três infecção por VIH-1 e VIH-2 (VIH-D) conforme se apresenta na figura 5.

Quanto à via de transmissão da infecção por VIH nos co-infectados, 133 (56,1%) eram toxicodependentes activos, 46 (19,4%) heterossexuais, 21 (8,9%) homossexuais e oito (3,4%) bissexuais. Vinte e nove (12,2%) tinham história simultânea de toxicodependência e de heterossexualidade, de toxicodependência e de homossexualidade ou de toxicodependência e de bissexualidade. Em cada um dos tipos de comportamento sexual, subentendeu-se comportamentos de risco como relações sexuais frequentes, não protegidas e com diferentes parceiros, em curto espaço de tempo (três meses). Em 27 (11,4%) dos co-infectados foi possível identificar várias doenças crónicas concomitantes - asma brônquica ou doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) em oito, diabetes *mellitus* em quatro, cirrose hepática alcoólica em quatro, insuficiência cardíaca congestiva de causa hipertensiva em três, doença psiquiátrica por esquizofrenia ou oligofrenia em três, glomerulonefrite membranoproliferativa, hepatite autoimune, hipotireoidismo, esplenectomia pós-traumática e linfoma de Hodgkin em um, por cada uma das doenças. Vinte e oito (11,8%) dos co-infectados, estavam institucionalizados e 14 (5,9%) eram sem

abrigo. De 178 doentes em que havia informação disponível, 118 (66,3%) estavam co-infectados por vírus da hepatite C (VHC) e de 174 com informação disponível, 22 (12,6%) estavam co-infectados por vírus da hepatite B (VHB). As características comportamentais, sexuais e de consumos de drogas por via intravenosa, encontram-se descritas na tabela 6. Ainda no grupo dos co-infectados, 27 (11,4%) apresentavam positividade nos marcadores serológicos de sífilis.

No grupo dos imunocompetentes, 13 (17,6%) eram toxicodependentes e 61 (82,4%) eram heterossexuais, sem hábitos de toxicodependência. Em 14 doentes (18,9%), identificaram-se doenças crónicas (diabetes *mellitus* em oito, asma brônquica ou DPOC em quatro, glomerulonefrite crónica em um e insuficiência cardíaca congestiva de causa hipertensiva, também, em um). Cinco destes doentes estavam institucionalizados (6,8%) e cinco (6,8%) eram sem abrigo. De 43 doentes em que a informação estava disponível, 38 (65,1%) estavam co-infectados por VHC e de 45 com informação disponível, dois (4,4%) estavam co-infectados por VHB. Por último, dentro do grupo dos doentes imunocompetentes, cinco (6,8%) tinham positividade nos marcadores serológicos de sífilis.

**Tabela 6 - Características comportamentais, sexuais e de consumos de drogas por via intravenosa dos doentes com TB MR ou TB ER (co-infectados por VIH e imunocompetentes)**

<b>Total de doentes (n=311)</b>	<b>Co-infectados por VIH (n=237)</b>	<b>Imunocompetentes (n=74)</b>
<b>Epidemiologia</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
Bissexual	8 (3,4)	-
Heterossexual	46 (19,4)	61 (82,4)
Homossexual	21 (8,9)	-
Toxicodependente	133 (56,1)	13 (17,6)
Toxicodependente + homossexual	4 (1,7)	-
Toxicodependente + bissexual	2 (0,8)	-
Toxicodependente + heterossexual	23 (9,7)	-
<b>Total</b>	<b>237 (100,0)</b>	<b>74 (100,0)</b>

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Nos co-infectados por VIH, o valor médio de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, à data do diagnóstico de TB MR ou de TB ER, era de 82,2 células/μL (DP = 104,0), mas o valor mediano foi de 48,5 células/μL (IIQ = 18;110), ou seja, metade dos co-infectados tinha valor de linfócitos TCD4<sup>+</sup> menor ou igual a 48,5 células/μL.

Apenas em 7,6% dos co-infectados (18/237), a TB MR ou a TB ER foi reveladora de infecção subjacente por VIH. Nos doentes com infecção por VIH já conhecida, apenas em 28,7%

(68/237) é que a TB MR ou a TB ER foi a primeira infecção oportunista diagnosticada; os restantes referiam uma ou mais infecções oportunistas no passado.

Cento e quinze (48,5%) dos co-infectados e 30 (40,5%) dos imunocompetentes tinham recorrido, previamente, ao médico, não tendo sido admitido o diagnóstico de TB, enquanto os restantes nunca procuraram o médico, apesar de queixas de longa duração.

## 5.2. ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE CO-INFECTADOS POR VIH E IMUNOCOMPETENTES

### 5.2.1. RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS

A distribuição anual dos doentes com TB MR ou TB ER, conforme são co-infectados por VIH ou imunocompetentes é apresentada na figura 6. O número anual de co-infectados por VIH com TB MR ou TB ER está sempre acima do número anual em imunocompetentes, com excepção dos anos de 2006 a 2009 e do ano de 2011. Nos anos de 1995 e de 1996, houve um número desproporcionado de casos ocorridos em co-infectados por VIH (35 e 53 casos, respectivamente), por oposição a, apenas, quatro e sete casos, respectivamente, em imunocompetentes. Por seu lado, a incidência média anual de casos de TB MR ou TB ER, em co-infectados, foi de 13,2% (DP de 6,6%), com incidência mediana de 12,6% (IIQ compreendido entre 9,5% e 16,8%) e, em imunocompetentes, a incidência média anual de casos foi de 8,7% (DP de 7,1%), com incidência mediana de 6,7% (IIQ compreendido entre 4,1% e 14,6%).

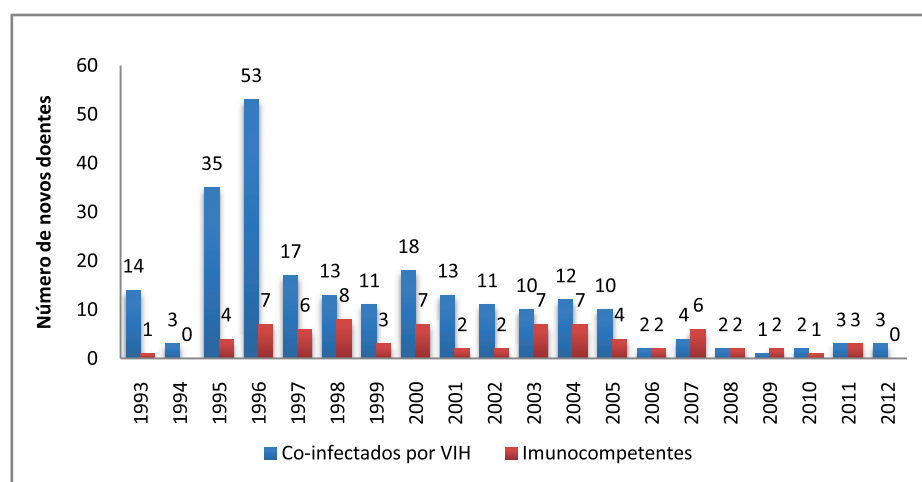
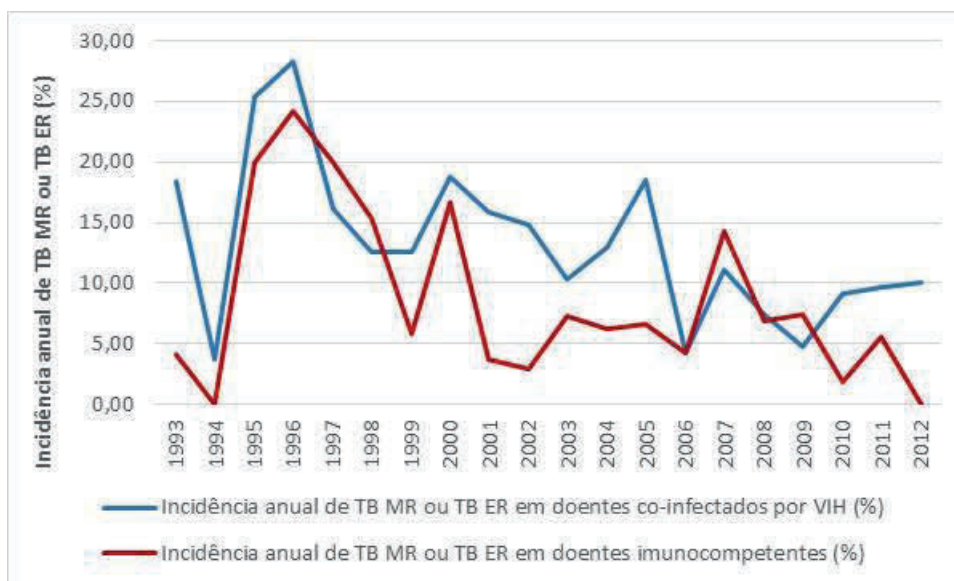


Figura 6 - Distribuição anual do número de doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER

Ambos os grupos de doentes registaram os valores mais elevados de incidência nos anos de 1995 e 1996 — no grupo de co-infectados os valores foram de 25% e 28%, respectivamente, e, no grupo de imunocompetentes os valores foram de 20% e de 24%, respectivamente (figura 7).



**Figura 7 - Incidência anual de TB MR ou de TB ER, em co-infectados por VIH e em imunocompetentes (1993 – 2012)**

Para ambos os grupos com TB MR e TB ER (dos co-infectados e dos imunocompetentes), as principais características sociodemográficas, epidemiológicas e de localização da TB, encontram-se descritas na tabela 7. O p-valor de testes de hipóteses é igualmente apresentado, tendo-se considerado um nível de significância de 5%.

A idade média dos co-infectados por VIH era de 35 anos (com DP de 8,8 anos) e a dos imunocompetentes era de 45 anos (com DP de 13,8 anos). Assim, podemos dizer que os co-infectados são tendencialmente mais novos que os imunocompetentes, sendo esta diferença de idades, estatisticamente, significativa (p-valor < 0,001).

No grupo de co-infectados por VIH, 214 eram do sexo masculino (90,3%) e no grupo de imunocompetentes, 51 eram do sexo masculino (68,9%). Em ambos os grupos, a maioria dos doentes era do sexo masculino, mas com maior percentagem (estatisticamente significativa, com p-valor < 0,001), no grupo de co-infectados por VIH.

Entre os co-infectados por VIH, 211 (89,0%) eram caucasianos e 26 (11,0%) eram não-caucasianos e entre os imunocompetentes, 57 (77,0%) eram caucasianos e 17 (23,0%) eram não-caucasianos. A proporção de caucasianos é maior em ambos os grupos, mas em maior percentagem no grupo dos co-infectados do que no dos imunocompetentes (89,0% vs 77,0%, respectivamente), ou de outra forma, existia uma maior percentagem de doentes não caucasianos no grupo dos imunocompetentes, diferença que é, estatisticamente, significativa (p-valor = 0,012).



**Tabela 7 - Características epidemiológicas, sociodemográficas e de localização anatómica da TB MR e da TB ER, nos doentes co-infectados por VIH e nos imunocompetentes**

	Co-infectados por VIH (n=237)	Imunocompetentes (n=74)	
Características	Média (dp)	Média (dp)	P-valor
Idade (anos)	35 (8,8)	45 (13,8)	<0,001
	n (%)	n (%)	P-valor
Sexo masculino	214 (90,3)	51 (68,9)	<0,001
Caucasianos	211 (89,0)	57 (77,0)	0,012
Nacionalidade portuguesa	200 (84,4)	51 (68,9)	0,006
Institucionalizado	28 (11,8)	5 (6,8)	0,282
Sem abrigo	14 (5,9)	5 (6,8)	0,784
Empregado	91 (38,6)	34 (45,9)	<0,001
Desempregado	127 (53,8)	22 (29,7)	-
Outros*	18 (7,6)	19 (25,7)	-
Hábitos alcoólicos	87 (36,7)	40 (54,1)	0,012
Hábitos tabágicos	172 (72,6)	49 (66,2)	0,365
Heterossexuais	69 (29,1)	61 (82,4)	<0,001
Toxicodependentes	162 (68,3)	13 (17,6)	<0,001
TB MR	197 (83,1)	52 (70,3)	0,025
TB ER	40 (16,9)	22 (29,7)	-
TB anterior sensível e incorrectamente tratada	103 (43,5)	19 (25,7)	0,006
TB pulmonar com envolvimento extrapulmonar	105 (44,7)	16 (21,6)	0,001
TB pulmonar sem envolvimento extrapulmonar	121 (50,6)	50 (67,6)	-
TB extrapulmonar	11 (4,6)	8 (10,8)	-

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens; dp – desvio-padrão*

*\* Reformados, estudantes, domésticas*

A nacionalidade portuguesa é a mais frequente em ambos os grupos, mas com maior percentagem de cidadãos nacionais entre os co-infectados por VIH e com TB MR ou TB ER do que nos imunocompetentes (84,4% vs 68,9%, p-valor = 0,006). Ou seja, a percentagem de imigrantes é maior no grupo dos imunocompetentes.

Quanto à profissão, consideraram-se três grandes categorias, para uso em testes de hipóteses, a de empregados, a de desempregados e a de “outros” (reformados, estudantes e domésticas). A percentagem de doentes com uma profissão activa era, ligeiramente, maior no grupo dos imunocompetentes com TB MR ou com TB ER, do que nos co-infectados (45,9% vs 38,6%, respectivamente), havendo uma maior percentagem de desempregados no grupo dos co-infectados do que no dos imunocompetentes (53,8% vs

29,7%, respectivamente). Entre os imunocompetentes era, igualmente, maior a percentagem de doentes na categoria “outros” (25,7% vs 7,6%). Estas diferenças são, estatisticamente, significativas.

Em relação aos hábitos alcoólicos há diferença, estatisticamente, significativa entre a percentagem nos doentes imunocompetentes e nos co-infectados (54,1% vs 36,7%). Quanto aos hábitos tabágicos, embora exista uma proporção, ligeiramente maior de fumadores no grupo dos co-infectados por VIH do que nos imunocompetentes (72,6% vs 66,2%), essa diferença não é, estatisticamente, significativa, em termos considerados de significância.

Quanto à epidemiologia, a percentagem de heterossexuais no grupo dos imunocompetentes era maior do que nos co-infectados (82,4% vs 29,1%) e, também, era maior a percentagem de toxicod dependentes entre os co-infectados do que entre os imunocompetentes (68,3% vs 17,6%). Para qualquer dos grupos epidemiológicos, as diferenças encontradas foram, estatisticamente, significativas (p-valor < 0,001).

No grupo dos co-infectados, 197 (83,1%) tinham TB MR e 40 (16,9%) TB ER e no grupo dos imunocompetentes 52 (70,3%) apresentavam TB MR e 22 (29,7%) TB ER. Esta diferença é, estatisticamente, significativa (p-valor = 0,025).

No grupo dos co-infectados, 103 (43,5%) tiveram no passado TB sensível aos antituberculosos, no entanto não completaram o tratamento, por má adesão. Entre os imunocompetentes 19 (25,7%) tinham, também, história de TB sensível aos antituberculosos, não tendo concluído o tratamento. No total, 134 dos co-infectados e 55 dos imunocompetentes desconheciam antecedentes de TB, afirmando tratar-se do primeiro diagnóstico, ou tinham história no passado de TB sensível aos antituberculosos tratada e curada havia mais de quatro anos. Por outro lado, há mais casos de TB no passado e sensível aos antituberculosos, que foi incorrectamente tratada, no grupo dos co-infectados do que no grupo dos imunocompetentes (43,5% vs 25,7%), resultado que foi, estatisticamente, significativo (p-valor = 0,006).

No que diz respeito à localização da TB MR e da TB ER nos co-infectados, 11 (4,6%) tinham TB extrapulmonar e 226 (95,3%) exibiam TB pulmonar, dos quais 105 (44,7%) mostravam envolvimento extrapulmonar concomitante e 121 sem envolvimento extrapulmonar (50,6%). Nos imunocompetentes, oito (10,8%) tinham TB extrapulmonar e 66 (89,2%) apresentavam TB pulmonar, dos quais 16 (21,6%) com envolvimento extrapulmonar

simultâneo e 50 (67,6%) sem compromisso extrapulmonar. Assim, regista-se maior proporção de casos de TB pulmonar com envolvimento extrapulmonar entre os co-infectados, ao mesmo tempo que se verifica uma maior proporção de casos de TB pulmonar, sem envolvimento extrapulmonar concomitante, e de TB com localização extrapulmonar no grupo dos imunocompetentes. Estas diferenças são, estatisticamente, significativas, considerando um nível de significância de 10%.

## 5.2.2. RESULTADOS CLÍNICOS

### 5.2.2.1. Sintomas e sinais

A comparação entre co-infectados por VIH e imunocompetentes, no que diz respeito à duração de sintomas (em dias), que antecedeu o internamento (tabela 8), mostra que ela é maior nos doentes imunocompetentes (69,8 vs 45,1 dias), sendo esta diferença, estatisticamente, significativa (p-valor < 0,001). Como a distribuição da duração de sintomas se afasta da curva normal, optou-se por um teste não paramétrico de Mann-Whitney-Wilcoxon, para amostras independentes, para testar as diferenças entre as médias dos dois grupos.

**Tabela 8 - Duração de sintomas em doentes co-infectados por VIH ou imunocompetentes, com TB MR e TB ER**

Duração de sintomas (dias)	Co-infectados por VIH	Imunocompetentes	P-valor
	(n=237)	(n=74)	
Média (dp)	45,1 (45,6)	69,8 (73,2)	<0,001
Mediana (IIQ)	30,0 (15,0 - 45,1)	35,0 (30,0 - 69,8)	-

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens, dp=desvio padrão; IIQ=intervalo inter-quartil

As tabelas 9 e 10 apresentam a comparação da prevalência de sintomas e de sinais clínicos, entre co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR e TB ER.

Quanto aos sintomas, a febre esteve presente em quase todos os doentes, mas em maior percentagem nos co-infectados por VIH do que nos imunocompetentes (94,1% vs 73,0%). O valor médio da temperatura foi, também, mais alto nos co-infectados do que nos imunocompetentes (38,8°C vs 38,2°C), sendo esta diferença, estatisticamente, significativa (p-valor < 0,001). Nos co-infectados o padrão da curva febril mais vezes encontrado, foi o

“sem horário” (70,9%), enquanto que nos imunocompetentes, os padrões mais frequentes foram o “sem horário” (59,3%) e a febre vespertina (29,6%).

Classificando a febre em “sem horário”, em “vespertina” e em “outro padrão” (bidiária, matutina ou não caracterizada) foram encontradas diferenças, estatisticamente, significativas (“sem horário” 70,9% vs 59,3%, “vespertina” 14,8% vs 29,6% e “outro padrão” 14,4% vs 11,2%, respectivamente para co-infectados por VIH e para imunocompetentes, com p-valor = 0,037).

**Tabela 9 - Caracterização dos sintomas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER**

Total de doentes (n=311)	Co-infectados por VIH (n=237)	Imunocompetentes (n=74)	P-valor
Sintomas	n (%)	n (%)	
<b>Febre</b>	223 (94,1)	54 (73,0)	<0,001
Bidiária	2 (0,9)	1 (1,9)	0,037 <sup>1</sup>
Matutina	1 (0,5)	1 (1,9)	-
Não caracterizada	29 (13,0)	4 (7,4)	-
Sem horário	158 (70,9)	32 (59,3)	-
Vespertina	33 (14,8)	16 (29,6)	-
<b>Valor médio da temperatura (°C)</b>	38,8 (0,6)	38,2 (0,7)	<0,001
<b>Tosse</b>	207 (87,3)	64 (86,5)	0,844
<b>Expectoração</b>	185 (78,1)	60 (81,1)	0,831
Hemoptóica	42 (22,6)	17 (27,9)	0,167
Mucopurulenta	86 (46,6)	32 (53,5)	-
Mucosa	57 (30,8)	11 (18,6)	-
<b>Hemoptises</b>	5 (2,1)	6 (8,1)	0,025
<b>Toracalgia</b>	66 (27,9)	21 (28,4)	1,000
<b>Sudação nocturna</b>	75 (31,7)	40 (54,1)	0,001
<b>Emagrecimento</b>	160 (67,5)	56 (75,7)	0,235
<b>Perda de peso em Kg</b>			
Média (dp)	11,1 (7,5)	9,7 (4,1)	0,189
Mediana (IIQ)	10 (5,5 - 15,0)	10 (5,3 - 14,8)	-
<b>Vómitos</b>	16 (6,8)	6 (8,1)	0,795
<b>Diarreia</b>	74 (31,2)	7 (9,5)	<0,001
<b>Astenia</b>	121 (51,1)	38 (51,4)	1,000
<b>Anorexia</b>	92 (38,8)	35 (47,3)	0,223
<b>Dispneia</b>	47 (19,8)	16 (21,6)	0,742
<b>Náuseas</b>	6 (2,5)	2 (2,7)	1,000

<sup>1</sup>P-valor obtido caracterizando a febre em “sem horário”, “vespertina” e “outro padrão”.

n - número de observações usado no cálculo das percentagens, dp=desvio padrão; IIQ=intervalo inter-quartil

Não foram encontradas diferenças, estatisticamente, significativas, na ocorrência de tosse (87,3% vs 86,5%, respectivamente, em co-infectados e em imunocompetentes) ou de expectoração (78,1% vs 81,1%, respectivamente, em co-infectados e em imunocompetentes). A expectoração mucopurulenta foi a mais frequente em ambos os

grupos, seguida da expectoração mucosa, nos co-infectados por VIH e da hemoptóica, nos imunocompetentes. A prevalência deste último tipo de expectoração não se revelou, também, significativamente, diferente (p-valor = 0,167). Igualmente, sem diferenças, estatisticamente, significativas, mas com maior prevalência em imunocompetentes do que em co-infectados foram a toracalgia (28,4% vs 27,9%), os vómitos (8,1% vs 6,8%), a astenia (51,4% vs 51,1%), a dispneia (21,6% vs 19,8%), as náuseas (2,7% vs 2,5%) e a anorexia (47,3% vs 38,8%). O emagrecimento foi mais acentuado nos co-infectados por VIH do que nos imunocompetentes (11,1 Kg vs 9,7 Kg), mas, uma vez mais, sem significado estatístico. Além do mais, verificou-se que 50% dos doentes, em ambos os grupos, perderam até 10 Kg de peso corporal. As hemoptises (8,1% vs 2,1%) e a sudação nocturna (54,1% vs 31,7%) foram referidas mais vezes entre os imunocompetentes, enquanto que a diarreia (31,2% vs 9,5%), foi referida mais vezes entre os co-infectados. Estas diferenças foram, estatisticamente, significativas (com p-valor = 0,025 para as hemoptises e p-valor = 0,001 para a sudação nocturna).

**Tabela 10 - Caracterização dos sinais clínicos em co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER**

Total de doentes (n=311)	Co-infectados por VIH (n=237)	Imunocompetentes (n=74)	P-valor
Sinais clínicos	n (%)	n (%)	
Adenomegalias	126 (53,2)	11 (14,9)	<0,001
Hepatomegalia	149 (62,9)	14 (18,9)	<0,001
Esplenomegalia	58 (24,5)	2 (2,7)	<0,001

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Quanto aos sinais clínicos, as adenomegalias (53,2% vs 14,9%), a hepatomegalia (62,9% vs 18,9%) e a esplenomegalia (24,5% vs 2,7%) foram mais vezes observadas em co-infectados do que em imunocompetentes. Estes resultados foram todos, estatisticamente, significativos, com p-valor < 0,001.

### 5.2.2.2. Tuberculose extrapulmonar

Para os co-infectados por VIH e para os imunocompetentes, as diferentes formas clínicas de TB extrapulmonar MR e ER e as diferentes localizações extrapulmonares concomitantes, em doentes com TB pulmonar MR e ER são discriminadas nas tabelas 11 e 12.

**Tabela 11 - Localizações da TB extrapulmonar MR ou ER em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes**

<b>Total de doentes (n=19)</b>	<b>Co-infectados por VIH (n=11)</b>	<b>Imunocompetentes (n=8)</b>
<b>TB extrapulmonar</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>Renal</b>	<b>4 (36,4)</b>	<b>4 (50,0)</b>
<b>Sistema nervoso central</b>	<b>2 (18,2)</b>	<b>2 (25,0)</b>
Meningite	1 (9,1)	2 (25,0)
Tuberculoma	1 (9,1)	-
<b>Peritoneal</b>	<b>2 (18,2)</b>	-
<b>Pleural</b>	<b>1 (9,1)</b>	-
<b>Hepática</b>	<b>1 (9,1)</b>	-
<b>Óssea</b>	<b>1 (9,1)</b>	<b>2 (25,0)</b>
Articular periférica (joelho)	1 (9,1)	-
Esterno-acrómio-clavicular	-	1 (12,5)
Espondilodiscite aguda (L2-L3)	-	1 (12,5)

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Nos co-infectados por VIH, a forma de TB extrapulmonar MR ou ER mais frequente foi a renal (36,4%), seguida pela do sistema nervoso central (SNC) e pela peritoneal, em iguais percentagens (18,2%). Nos imunocompetentes, foram a renal (50%), a do SNC (25%) e a óssea (25%). Num doente co-infectado por VIH, houve envolvimento simultâneo de dois órgãos extrapulmonares.

Nos co-infectados por VIH com TB pulmonar MR ou ER e envolvimento extrapulmonar simultâneo de um ou mais órgãos, o mais observado foi a disseminação miliar (45,7%), seguida das localizações ganglionar (21,9%), meníngea (18,1%) e pleural (15,2%), enquanto que nos imunocompetentes foi a disseminação miliar (81,3%), seguida da localização pleural (12,5%).

**Tabela 12 - TB pulmonar MR ou ER com envolvimento extrapulmonar em doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes**

<b>Total de doentes (n= 121)</b>	<b>Co-infectados por VIH (n=105)</b>	<b>Imunocompetentes (n=16)</b>
<b>Órgão ou sistema envolvidos</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>Miliar</b>	<b>48 (45,7)</b>	<b>13 (81,3)</b>
<b>Ganglionar</b>	<b>23 (21,9)</b>	-
<b>Sistema nervoso central</b>	<b>22 (21,0)</b>	-
Meningite	19 (18,1)	-
Tuberculoma cerebral	3 (2,9)	-
<b>Pleural</b>	<b>16 (15,2)</b>	<b>2 (12,5)</b>
<b>Cutânea</b>	<b>8 (7,6)</b>	-
<b>Pericárdica</b>	<b>7 (6,7)</b>	-
<b>Geniturinária</b>	<b>5 (4,8)</b>	<b>1 (6,3)</b>
Renal	4 (3,8)	1 (6,3)
Orquiepididimite	1 (1,0)	-
<b>Hepática</b>	<b>5 (4,8)</b>	<b>1 (6,3)</b>
<b>Esplénica</b>	<b>3 (2,9)</b>	-
<b>Óssea</b>	<b>3 (2,9)</b>	-
Coxofemural	1 (1,0)	-
Espondilodiscite (D9-D12)	1 (1,0)	-
Condrocostal	1 (1,0)	-
<b>Intestinal</b>	<b>2 (1,9)</b>	-
<b>Peritoneal</b>	<b>2 (1,9)</b>	-
<b>Ocular</b>	<b>1 (1,0)</b>	-
<b>Abcesso psoas</b>	<b>1 (1,0)</b>	-
<b>Laríngea</b>	-	<b>1 (6,3)</b>

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

### 5.2.3. RESULTADOS LABORATORIAIS

Na tabela 13 são mostrados os resultados dos parâmetros laboratoriais (hematológicos e bioquímicos) em co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER. Na distribuição da maioria das variáveis, observou-se um afastamento da normalidade, o que nos fez optar por testes não paramétricos (Mann-Whitney-Wilcoxon para amostras independentes). À excepção da hemoglobina (Hb), do sódio (Na) e da velocidade de sedimentação (VS) todos os resultados foram, ainda, comparados usando o teste T-Student e aplicando, previamente, a função logarítmica. Foram encontradas diferenças, estatisticamente, significativas nos valores da Hb (valor mediano de 10,1 g/dl em co-infectados vs 12,1 g/dl em imunocompetentes), dos leucócitos (valor mediano de  $5,1 \times 10^9$ /L em co-infectados por VIH vs de  $10,2 \times 10^9$ /L em imunocompetentes), das plaquetas (valor mediano de  $198 \times 10^9$ /L em co-infectados vs  $349 \times 10^9$ /L em imunocompetentes), da transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) - valor mediano de 35 U/L em co-infectados por

VIH vs de 29 U/L em imunocompetentes, da gamaglutamil-transpeptidase ( $\gamma$ GT) - valor mediano de 75 U/L em co-infectados vs de 41 U/L em imunocompetentes, do Na (valor mediano de 134 mEq/L em co-infectados vs 137 mEq/L em imunocompetentes) e da VS (valor mediano de 99 mm nos co-infectados vs 73 mm nos imunocompetentes).

Nas variáveis ureia e creatinina, embora pelo teste não paramétrico se conclua existir uma diferença, estatisticamente, significativa, a mesma não se verifica pelo teste T-Student, com as variáveis logaritmizadas [p-valor para log (ureia) = 0,085; p-valor para log (creatinina) = 0,129]. Pelo contrário, na variável fosfatase alcalina, enquanto o teste não paramétrico está no limiar da significância, o p-valor do teste T-Student para log (fosfatase alcalina) foi igual a 0,018, o que parece indicar uma diferença, estatisticamente, significativa.



**Tabela 13 - Variáveis laboratoriais observadas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes, com TB MR e TB ER**

Variáveis laboratoriais	Co-infectados por VIH (n=237)					Imunocompetentes (n=74)					P-valor
	n	Média	DP	Mediana	IIQ	n	Média	DP	Mediana	IIQ	
Hb (g/dl)	213	10,2	2	10,1	(8,8 - 11,5)	59	11,9	1,8	12,1	(10,9 - 12,9)	<0,001
Leucócitos (x10 <sup>9</sup> /L)	212	6,16	6,94	5,10	(3,20 - 7,52)	58	10,67	3,74	10,20	(8,25 - 10,20)	<0,001
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> /L)	211	217	108	198	(142 - 281)	56	356	147	349	(275 - 431)	<0,001
Ureia (mg/dL)	209	36,6	25,8	31	(23 - 41)	56	36,1	37,6	26,5	(19,0 - 35,3)	0,014*
Creatinina (mg/dL)	210	1	0,4	0,9	(0,8 - 1,0)	57	1	0,9	0,8	(0,6 - 0,9)	0,001*
TGO (U/L)	210	55	73,7	35	(24 - 56)	59	55,9	176,3	29	(17,5 - 44,0)	0,013
TGP (U/L)	211	30,2	28,6	22	(12 - 35)	59	43,9	148,3	19	(12,0 - 27,0)	0,243
Fosfatase alcalina (U/L)	205	159,5	167,2	103	(71 - 176)	58	114,6	113,8	90	(72,0 - 112,8)	0,053*
γGT (U/L)	204	124,7	131,9	75	(40 - 142,8)	58	68,4	79,2	41	(24,3 - 79,5)	<0,001
Bilirrubina total (mg/dL)	201	0,9	1,6	0,5	(0,4 - 0,8)	55	0,5	0,4	0,4	(0,3 - 0,6)	0,004
Bilirrubina directa (mg/dL)	199	0,4	1,2	0,1	(0,0 - 0,3)	54	0,1	0,2	0	(0,0 - 0,1)	<0,001
LDH (U/L)	208	527,9	345,5	438,5	(321,5 - 590,2)	55	510,2	406,7	391	(261,0 - 581,5)	0,128
Na (mEq/L)	209	133,8	5,3	134	(130,0 - 137,0)	56	136,4	3,4	137	(133,8 - 139,0)	<0,001
VS (mm)	196	94,3	26	99	(79,0 - 111,0)	49	71,6	30	73	(55,0 - 97,0)	<0,001

\*Foi usado também o teste T-Student utilizando as variáveis logaritimizadas (nível de significância de 5%), com resultados discrepantes sobre a significância estatística das diferenças observadas

n - número de observações usado no cálculo das percentagens; dp=desvio padrão; IIQ=intervalo inter-quartil; Hb - hemoglobina; TGO - transaminase glutâmico-oxalacética; TGP - transaminase glutâmico-pirúvica; γGT - gamaglutamil-transpeptidase; LDH - desidrogenase láctica; Na - sódio; VS - velocidade de sedimentação

## **5.2.4. RESULTADOS IMAGIOLÓGICOS**

### **5.2.4.1. Radiografia do tórax**

As características de 282 radiografias de tórax disponíveis (219 de co-infectados por VIH e 63 de imunocompetentes), de entre os 292 doentes com TB pulmonar MR e ER de ambos os grupos são diferenciadas na tabela 14. O infiltrado foi o padrão mais frequente em co-infectados por VIH e em imunocompetentes, mas não se destacou em nenhum dos grupos (90,4% vs 95,3%), sendo mais comum o de tipo micronodular ou nodular (27,3% vs 33,3%), o de tipo alveolar ou condensação (22,2% vs 31,7%) e o intersticial difuso ou em vidro despolido (21,7% vs 11,7%). A sua localização mais frequente, em ambos os grupos, foi a bilateral (60,1% vs 51,7%, respectivamente em co-infectados por VIH e em imunocompetentes), seguida da localização no pulmão direito, bem como nos andares superiores ou no vértice (25,0% vs 49,2%, respectivamente em co-infectados por VIH e imunocompetentes).

O padrão “miliar” foi mais frequente nos co-infectados (10,1% vs 1,7% nos imunocompetentes), no entanto, a interpretação deste resultado, terá que ser cuidadosa, uma vez que a dimensão do grupo de imunocompetentes, foi de apenas um doente.

A radiografia do tórax foi interpretada como normal em 9,6% dos co-infectados por VIH e em 4,8% dos doentes imunocompetentes, percentagens que se consideram, estatisticamente, semelhantes.

A cavidade foi menos frequente nos co-infectados por VIH, do que nos imunocompetentes (18,3% vs 63,5%). A diferença foi, estatisticamente, significativa, localizando-se mais vezes nos andares superiores ou no vértice, em ambos os grupos de doentes (77,5% em co-infectados e 82,5% em imunocompetentes).

O derrame pleural foi mais frequente em co-infectados do que em imunocompetentes (12,8% vs 6,3%), sendo a diferença considerada, estatisticamente, significativa. Quanto à sua localização, não houve diferenças entre os dois grupos.

**Tabela 14 - Caracterização das radiografias do tórax em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB pulmonar MR e ER**

Radiografia do tórax (n=282)	Co-infectados por VIH (n=219)	Imunocompetentes (n=63)	P-valor
<b>Padrão</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
<b>Infiltrado</b>	<b>198 (90,4)</b>	<b>60 (95,3)</b>	<b>0,343</b>
Alveolar ou condensação	44 (22,2)	19 (31,7)	-
Intersticial difuso ou vidro despolido	43 (21,7)	7 (11,7)	-
Intersticial localizado	22 (11,1)	6 (10,0)	-
Micronodular ou nodular	54 (27,3)	20 (33,3)	-
Micronodular ou nodular + condensação	2 (1,0)	1 (1,7)	-
Intersticial difuso + condensação	7 (3,5)	1 (1,7)	-
Intersticial difuso + micronodular ou nodular	5 (2,5)	3 (5,0)	-
Intersticial localizado + condensação	-	2 (3,3)	-
Micronodular+alveolar + intersticial difuso	1 (0,5)	-	-
Miliar	20 (10,1)	1 (1,7)	-
<b>Localização anatómica</b>			
Bilateral	119 (60,1)	31 (51,7)	0,539
Unilateral direito	51 (25,7)	19 (31,7)	-
Unilateral esquerdo	28 (14,2)	10 (16,7)	-
<b>Andares</b>			
Inferiores	30 (15,1)	1 (1,7)	-
Médios	46 (23,3)	4 (6,8)	-
Superiores ou vértice	50 (25,0)	30 (49,2)	-
Inferiores + médios	18 (9,3)	2 (3,4)	-
Superiores ou vértice + inferiores	6 (2,9)	2 (3,4)	-
Superiores ou vértice + médios	16 (8,1)	7 (11,9)	-
Superiores ou vértice + médios + inferiores	32 (16,3)	14 (23,7)	-
<b>Normal</b>	<b>21 (9,6)</b>	<b>3 (4,8)</b>	<b>0,343</b>
<b>Cavidade</b>	<b>40 (18,3)</b>	<b>40 (63,5)</b>	<b>0,000</b>
<b>Localização anatómica</b>			
Bilateral	15 (38,5)	7 (17,5)	0,123
Unilateral direita	18 (45,0)	22 (55,0)	-
Unilateral esquerda	7 (18,0)	11 (27,5)	-
<b>Andares</b>			
Inferiores	2 (5,1)	-	-
Médios	3 (7,7)	5 (12,5)	-
Superiores ou vértice	31 (77,5)	33 (82,5)	-
Superiores ou vértice + inferiores	1 (2,6)	-	-
Superiores ou vértice + médios	2 (5,1)	1 (2,5)	-
Superiores ou vértice + médios + inferiores	1 (2,6)	1 (2,5)	-
<b>Derrame pleural</b>	<b>28 (12,8)</b>	<b>4 (6,3)</b>	<b>0,000</b>
<b>Localização anatómica</b>			
Bilateral	3 (10,7)	-	1,000
Unilateral direito	13 (46,4)	2 (50,0)	-
Unilateral esquerdo	12 (42,9)	2 (50,0)	-
<b>Pneumotórax/enfisema</b>	<b>7 (3,0)</b>	<b>4 (5,4)</b>	<b>0,328</b>

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

O enfisema e/ou o pneumotórax estiveram presentes em 3,0% dos co-infectados e em 5,4% dos imunocompetentes, não se encontrando, do mesmo modo, diferenças, estatisticamente, significativas.

#### **5.2.4.2. Tomografia axial computadorizada torácica**

As características de 269 tomografias axiais computadorizadas (TAC) torácicas disponíveis (204 de co-infectados por VIH e 65 de imunocompetentes), de entre os 292 doentes com TB pulmonar MR e ER de ambos os grupos são apresentadas na tabela 15.

O padrão mais frequente, nos co-infectados por VIH, foi o infiltrado micronodular ou nodular (38,9%), seguido do intersticial difuso ou em vidro despolido (23,4%), enquanto que nos imunocompetentes foi o micronodular ou nodular (36,4%) e depois a condensação ou padrão alveolar (23,6%). O envolvimento bilateral foi o mais frequente em ambos os grupos, seguido do envolvimento unilateral do pulmão direito. Não houve diferenças, estatisticamente, significativas. Nos co-infectados, as localizações anatómicas mais comuns foram nos andares superiores ou vértice + médios + inferiores em conjunto (23,1%) e nos andares superiores ou vértice (20,0%) e nos imunocompetentes foram nos andares superiores ou vértice (41,2%) e nos andares superiores ou vértice + médios + inferiores (25,5%).

Não se encontraram diferenças em relação ao padrão miliar (16,6% vs 18,2%, respectivamente em co-infectados e em imunocompetentes).

A presença de cavidades nas TAC torácicas foi menos frequente nos co-infectados do que nos imunocompetentes (52,9% vs 84,6%). A diferença foi, estatisticamente, significativa. As localizações bilateral ou no pulmão direito, destas cavidades, foram as mais comuns em ambos os grupos, assim como nos andares superiores ou no vértice (62,0% vs 70,5%, respectivamente em co-infectados e em imunocompetentes).

A presença de derrame pleural ocorreu mais vezes no grupo dos co-infectados por VIH. Este resultado foi significativo, apenas, a 10%. Neste grupo de doentes, aquele foi mais vezes bilateral (45,5%) ou localizado à direita (40,6%), enquanto que no grupo dos imunocompetentes foi mais vezes observado à direita (47,8%) ou à esquerda (43,5%). Estas diferenças são, estatisticamente, significativas.

**Tabela 15 - Caracterização das TAC torácicas em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB pulmonar MR e ER**

<b>TAC torácica (n=269)</b>	<b>Co-infectados por VIH (n=204)</b>	<b>Imunocompetentes (n=65)</b>	<b>P-valor</b>
<b>Padrão</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
<b>Infiltrado</b>	<b>175 (85,8)</b>	<b>55 (84,6)</b>	<b>0,955</b>
Alveolar ou condensação	32 (18,3)	13 (23,6)	-
Intersticial difuso ou vidro despolido	41 (23,4)	5 (9,1)	-
Micronodular ou nodular	68 (38,9)	20 (36,4)	-
Alveolar + vidro despolido	6 (3,4)	8 (14,5)	-
Nodular + condensação	27 (15,4)	9 (16,4)	-
Micronodular + alveolar + intersticial	1 (0,6)	-	-
<b>Localização anatómica</b>			
Bilateral	129 (73,8)	37 (66,7)	0,124
Unilateral direito	25 (14,1)	14 (25,5)	-
Unilateral esquerdo	21 (12,1)	4 (7,8)	-
<b>Andares</b>			
Inferiores	22 (12,5)	3 (5,9)	-
Médios	23 (13,0)	1 (2,0)	-
Superiores ou vértice	35 (20,0)	23 (41,2)	-
Inferiores + médios	17 (9,7)	1 (2,0)	-
Inferiores + superiores ou vértice	6 (3,4)	-	-
Superiores ou vértice + inferiores	13 (7,4)	11 (19,6)	-
Superiores ou vértice + médios	19 (10,9)	2 (3,9)	-
Superiores ou vértice + médios + inferiores	40 (23,1)	14 (25,5)	-
<b>Miliar</b>	<b>29 (16,6)</b>	<b>10 (18,2)</b>	<b>0,955</b>
<b>Cavidade</b>	<b>108 (52,9)</b>	<b>55 (84,6)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Localização anatómica</b>			
Bilateral	42 (39,0)	27 (49,0)	0,560
Unilateral direita	46 (42,4)	19 (34,1)	-
Unilateral esquerda	20 (18,6)	9 (15,9)	-
<b>Andares</b>			
Inferiores	9 (8,3)	1 (2,3)	-
Médios	4 (3,7)	-	-
Superiores ou vértice	67 (62,0)	39 (70,5)	-
Inferiores + médios	4 (3,7)	-	-
Inferiores + superiores ou vértice	20 (18,5)	9 (15,9)	-
Médios + superiores ou vértice	-	1 (2,3)	-
Superiores ou vértice + médios + inferiores	4 (3,7)	5 (9,1)	-
<b>Derrame pleural</b>	<b>101 (49,5)</b>	<b>23 (35,4)</b>	<b>0,064</b>
Bilateral	46 (45,5)	2 (8,7)	<0,001
Unilateral direito	41 (40,6)	11 (47,8)	-
Unilateral esquerdo	14 (13,9)	10 (43,5)	-
<b>Derrame pericárdico</b>	<b>37 (18,1)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Enfisema</b>	<b>15 (8,6)</b>	<b>8 (14,5)</b>	<b>0,321</b>
<b>"Tree-in bud"</b>	<b>11 (6,3)</b>	<b>6 (10,9)</b>	<b>0,406</b>
<b>Pneumotorax</b>	<b>2 (1,1)</b>	<b>-</b>	<b>1,000</b>
<b>Bronquiectasias</b>	<b>8 (4,6)</b>	<b>9 (16,4)</b>	<b>0,016</b>
<b>Adenomegalias hilares ou mediastínicas</b>	<b>142 (69,6)</b>	<b>35 (53,9)</b>	<b>0,030</b>
<b>Adenomegalias hilares ou mediastínicas necrosadas</b>	<b>72 (35,3)</b>	<b>11 (16,9)</b>	<b>0,006</b>

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

O derrame pericárdico foi encontrado mais vezes em co-infectados do que em imunocompetentes (18,1% vs 1,5% respectivamente) e as bronquiectasias foram menos comuns entre os co-infectados do que nos imunocompetentes (4,6% vs 16,4% respectivamente). Estas diferenças foram, estatisticamente, significativas.

Também, nos co-infectados, as adenomegalias hilares ou mediastínicas foram mais frequentes (69,6% vs 53,9% em imunocompetentes), bem com a ocorrência de adenomegalias necrosadas (35,3% vs 16,9% em imunocompetentes), diferenças que são, de igual modo, estatisticamente, significativas.

#### 5.2.4.3. Tomografia axial computadorizada abdominal e ecografia abdominal

A análise comparativa de 170 TAC/ecografias abdominais, dos 311 doentes com TB MR e TB ER é, de igual modo, apresentada na tabela 16.

**Tabela 16 - Caracterização das TAC/ecografias abdominais nos doentes com TB MR ou TB ER**

Total de doentes (n=170)	Co-infectados por VIH (n=144)	Imunocompetentes (n=26)	P-valor
TAC/Ecografia abdominal	n (%)	n (%)	
Adenomegalias intra-abdominais	144 (100,0)	26 (100,0)	-
Adenomegalias com necrose	53 (36,8)	2 (7,7)	0,003
Hepatomegalia homogénea	25 (17,4)	10 (38,5)	0,014
Hepatomegalia heterogénea (com nódulos ou abscessos)	5 (3,5)	2 (7,7)	0,322
Esplenomegalia homogénea	6 (4,2)	3 (11,5)	0,127
Esplenomegalia heterogénea (com nódulos ou abscessos)	1 (0,69)	1 (3,8)	0,174
Hepatoesplenomegalia homogénea	59 (41,0)	2 (7,7)	0,007
Hepatoesplenomegalia heterogénea (com nódulos ou abscessos)	28 (19,4)	-	0,014
Hepatoesplenomegalia com nódulos ou abscessos hepáticos	4 (2,8)	-	0,388
Hepatoesplenomegalia com nódulos ou abscessos esplénicos	10 (6,9)	-	0,168
Ascite	16 (11,1)	1 (3,8)	0,253

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Documentaram-se adenomegalias intra-abdominais em todos os doentes que realizaram TAC/ecografia abdominal quer fossem co-infectados, quer imunocompetentes, mas a presença de adenomegalias necrosadas foi mais frequente nos co-infectados do que no grupo dos imunocompetentes (36,8% vs 7,7%), diferença essa que foi, estatisticamente, significativa. Por outro lado, na globalidade dos doentes, encontraram-se diferenças, estatisticamente, significativas, quanto à presença de hepatomegalia homogénea (17,4% vs 38,5%, respectivamente em co-infectados e em imunocompetentes), de hepatoesplenomegalia homogénea (41,0% vs

7,7%, respectivamente, em co-infectados e em imunocompetentes) e de hepatoesplenomegalia heterogénea (19,4% vs 0%, respectivamente, em co-infectados por VIH e em imunocompetentes). De destacar que se deve ter alguma prudência na interpretação dos testes de hipóteses, já que as dimensões da amostra, para avaliação das características das TAC/ecografias abdominais, são reduzidas.

## 5.2.5. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

### 5.2.5.1. Exame directo da expectoração

A tabela 17 mostra os resultados microbiológicos do primeiro exame directo da expectoração com pesquisa de BAAR, nos 292 doentes com TB pulmonar MR ou ER.

**Tabela 17 - Resultados do primeiro exame directo da expectoração em doentes com TB pulmonar MR ou ER**

Total de doentes (n=292)	Co-infectados por VIH (n=226)	Imunocompetentes (n=66)	P-valor
Resultado do primeiro exame directo	n (%)	n (%)	
<b>Positivo</b>	94 (41,6)	53 (80,3)	<0,001
Muitos bacilos	47 (50,0)	21 (39,6)	0,050
Alguns bacilos	26 (27,7)	25 (47,2)	-
Raros bacilos	21 (22,3)	7 (13,2)	-
<b>Negativo</b>	132 (58,4)	13 (19,7)	0,012
Sempre negativo	62 (47,0)	8 (61,5)	0,477

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Apenas 41,6% dos co-infectados tinha o primeiro exame directo da expectoração positivo, enquanto 58,4% tinha o exame negativo. Por seu lado, nos imunocompetentes, o primeiro exame directo da expectoração foi positivo em 80,3% e negativo em 19,7%. Estas diferenças foram consideradas, estatisticamente, significativas. Quando o primeiro exame directo da expectoração foi positivo, houve maior frequência de “muitos bacilos”, entre os co-infectados (50%) e maior frequência de “alguns bacilos” entre os imunocompetentes (47,2%), diferenças que não foram, estatisticamente, significativas (p-valor = 0,050). Nos doentes, em que o primeiro exame directo da expectoração foi negativo, em 47% dos co-infectados e em 61,5% dos imunocompetentes, todos os exames subsequentes mantiveram-se negativos. Para estes doentes com expectoração “negativa” realizaram-se dois testes de hipóteses. No universo dos doentes com expectoração “sempre negativa” não se

encontraram diferenças, estatisticamente, significativas entre co-infectados e imunocompetentes (p-valor = 0,477). No universo de todos os doentes com expectoração “negativa” encontraram-se diferenças, estatisticamente, significativas entre os co-infectados e os imunocompetentes (p-valor = 0,012).

#### **5.2.5.2. Locais de identificação em exame directo e em exame cultural**

O número de diferentes fluídos ou de tecidos orgânicos, em que se identificou, em simultâneo e no mesmo doente, BAAR (no exame directo) ou *M. tuberculosis* (no exame cultural) é apresentado na tabela 18.

A percentagem de co-infectados por VIH, em que a identificação de BAAR, em exame directo, ocorreu em apenas um fluído ou tecido orgânico foi de 49,8%, em dois (em simultâneo) foi de 21,5% e em mais do que dois foi de 8,0%, enquanto que as mesmas percentagens nos doentes imunocompetentes foram, respectivamente, de 67,6%, 10,8% e 4,0%. A mediana é a de identificação em apenas um tipo de amostra, não existindo diferenças entre os grupos. Embora este resultado não seja, estatisticamente, significativo, há uma ligeira tendência para exames directos positivos, em maior número de amostras orgânicas em simultâneo, nos co-infectados por VIH.

A identificação de BAAR foi feita na expectoração, no LBA, no lavado brônquico, nas secreções brônquicas, no sangue, no líquor, no suco gástrico, na urina, em tecido hepático, ganglionar e cutâneo, em aspirado de gânglio, em líquido ascítico, pleural e pericárdico, na medula óssea, no pús de abscesso (parede torácica e couro cabeludo) e no pús de local de inserção de catéter.

No exame cultural, embora a mediana seja, de igual modo, de identificação de *M. tuberculosis* em, apenas, um tipo de amostra orgânica em ambos os grupos de doentes, o IIQ (isto é, 50% da amostra central ordenada) varia entre uma e duas amostras orgânicas diferentes, em simultâneo, para os co-infectados, o que indicia uma diferença, estatisticamente, significativa. Ela é mais explícita quando se analisam, individualmente, as diferentes percentagens. A percentagem de doentes co-infectados, em que o exame foi positivo, em apenas um tipo de amostra orgânica, foi de 53,2%, em dois fluidos ou tecidos orgânicos, em simultâneo, foi de 31,2% e em mais



do que dois foi de 15,6%, enquanto que nos imunocompetentes foi, respectivamente, de 90,5%, 6,7% e 2,8%. Este resultado é, estatisticamente, significativo, com maior tendência para exames culturais positivos em diferentes amostras em simultâneo, nos co-infectados por VIH.

**Tabela 18 - Fluidos ou tecidos orgânicos com exame directo ou com exame cultural positivos, em simultâneo, nos doentes com TB MR e TB ER**

Número de fluidos ou de tecidos orgânicos	Co-infectados por VIH	Imunocompetentes	Total	P-valor
	(n=237)	(n=74)	(n=311)	
<b>Exame directo</b>				
Mediana (IIQ)	1 (1;2)	1 (1;1)	1 (1;2)	
Média (dp)	1,2 (0,9)	1,0 (0,7)	1,1 (0,8)	0,176
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
0	49 (20,7)	13 (17,6)	62 (19,9)	
1	118 (49,8)	50 (67,6)	168 (54,0)	
2	51 (21,5)	8 (10,8)	59 (19,0)	
3	17 (7,2)	3 (4,0)	20 (6,4)	
4	2 (0,8)	0 (0,0)	2 (0,6)	
<b>Exame cultural</b>				
Mediana (IIQ)	1 (1;2)	1 (1;1)	1 (1;2)	
Média (dp)	1,7 (0,8)	1,1 (0,5)	1,5 (0,8)	<0,001
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
1	126 (53,2)	67 (90,5)	193 (62,0)	
2	74 (31,2)	5 (6,7)	79 (25,4)	
3	29 (12,2)	1 (1,4)	30 (9,7)	
4	8 (3,4)	1 (1,4)	9 (2,9)	

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens; *dp*=desvio padrão; *IIQ*=intervalo inter-quartil

A identificação de *M. tuberculosis* foi feita na expectoração, no LBA, no lavado brônquico, nas secreções brônquicas, no sangue, no líquido, no suco gástrico, na urina, em tecidos cutâneo, hepático, ganglionar e ósseo, em aspirado de gânglio, em líquidos ascítico, pleural e pericárdico, na medula óssea, no pus de abscesso (hepático, perianal, cervical e da parede torácica) e no pus de local de inserção de catéter.

### 5.2.5.3. Padrões de resistência

Para a globalidade dos doentes com TB MR e TB ER, a percentagem encontrada de resistências isoladas a cada um dos antibacilares de 1ª e de 2ª linhas, é mostrada na tabela 19. Para cada grupo (co-infectados por VIH ou imunocompetentes), indica-se, também, o total de amostras testadas, de diferentes fluidos orgânicos, para cada um

dos antibacilares. Nem todos os isolados foram testados para o mesmo número de fármacos.

Independentemente da resistência de 100% à INH e à RMP, a resistência a cada um dos antibacilares de 1ª linha foi superior a 60%, na globalidade das amostras testadas e para cada um dos grupos de doentes (co-infectados por VIH e imunocompetentes). Por ordem decrescente, houve maior percentagem de resistência à SM, de seguida ao EMB e depois à PZA.

Quanto aos antibacilares de 2ª linha, a resistência individual, na globalidade das amostras dos doentes com TB MR e TB ER, foi superior a 78% para a ETO e para a CFZ, o mesmo acontecendo para a OFX e para a CFZ respectivamente para os co-infectados e para os imunocompetentes. A resistência de 100% à SFX, em co-infectados por VIH, diz respeito a apenas uma amostra testada.

**Tabela 19 - Identificação das resistências aos antituberculosos de 1ª e 2ª linhas em co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB MR e TB ER**

Antituberculosos	Co-infectados por VIH (n=237)		Imunocompetentes (n=74)		Total (n=311)	
	Total de amostras testadas	Resistências	Total de amostras testadas	Resistências	Total de amostras testadas	Resistências
	n	%	n	%	n	%
<b>1ª LINHA</b>						
INH	237	100,0	74	100,0	311	100,0
RMP	237	100,0	74	100,0	311	100,0
EMB	228	78,5	74	82,4	302	79,5
SM	235	82,6	74	89,2	309	84,1
PZA	106	60,4	44	65,9	150	62,0
<b>2ª LINHA</b>						
ETO	76	80,3	40	92,5	116	84,5
KM	55	74,6	36	61,1	91	69,2
CM	49	67,4	30	66,7	79	67,1
AM	44	52,3	27	48,2	71	50,7
CFX	46	78,3	26	80,8	72	79,2
MXF	4	75,0	3	66,7	7	71,4
OFX	57	80,7	37	62,2	94	63,4
CS	25	36,0	8	50,0	33	39,4
CFZ	11	54,6	3	100,0	14	64,3
PAS	45	42,2	22	27,3	67	37,3
RFB	13	53,9	7	42,9	20	50,0
SFX	1	100,0	3	33,3	4	50,0
LZD	3	0,0	10	10,0	13	7,7

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Abreviaturas: AM=amicacina, CFZ=clofazimina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, CS=cicloserina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, LZD=linezolida, MXF=moxifloxacina, OFX=ofloxacina, PAS=ácido para-aminosalicílico, PZA=pirazinamida, RFB=rifabutina, RMP=rifampicina, SFX=esparfloxacina, SM=estreptomicina.

Na tabela 20 são mostrados os padrões de resistência aos antibacilares de 1ª linha e de 2ª linha, nos doentes com TB MR. Marcado a negrito, regista-se o padrão mais prevalente na globalidade das amostras e referente aos co-infectados por VIH e aos imunocompetentes. O padrão mais frequente em qualquer dos grupos, foi o de resistência simultânea à INH, RMP, EMB e SM. Em 17 doentes (11 co-infectados e seis imunocompetentes) o padrão de resistência foi único, diferente de todos os outros.

**Tabela 20 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR**

Padrões de resistência em doentes com TB MR	Co-infectados por VIH (n=197)		Imunocompetentes (n=52)		Total (n=249)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP	13	6,6	-	-	13	5,2
INH RMP EMB	10	5,1	3	5,8	13	5,2
INH RMP EMB ETO	2	1,0	-	-	2	0,8
INH RMP EMB PZA	3	1,5	1	1,9	4	1,6
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>101</b>	<b>51,3</b>	<b>19</b>	<b>36,5</b>	<b>120</b>	<b>48,2</b>
INH RMP EMB SM ETO	2	1,0	5	9,6	7	2,8
INH RMP EMB SM ETO CFX OFX	1	0,5	1	1,9	2	0,8
INH RMP EMB SM ETO OFX	2	1,0	1	1,9	3	1,2
INH RMP EMB SM PZA	11	5,6	4	7,7	15	6,0
INH RMP EMB SM PZA ETO CFX	-	-	2	3,9	2	0,8
INH RMP ETO	1	0,5	2	3,9	3	1,2
INH RMP PZA	8	4,1	1	1,9	9	3,6
INH RMP PZA ETO KM CM AM	2	1,0	-	-	2	0,8
INH RMP SM	22	11,2	6	11,5	28	11,2
INH RMP SM ETO	3	1,5	1	1,9	4	1,6
INH RMP SM PZA	5	2,5	-	-	5	2,0
Outros	11	5,6	6	11,5	17	6,9

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Abreviaturas: AM=amicacina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, OFX=ofloxacina, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina.

De forma semelhante, são mostrados os padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, encontrados nas amostras dos doentes com TB ER (tabela 21). Também a negrito, destacam-se os padrões mais relevantes.

**Tabela 21 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB ER**

Padrões de resistência em doentes com TB ER	Co-infectados por VIH (n=40)		Imunocompetentes (n=22)		Total (n=62)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP EMB SM ETO KM CM AM CFX OFX	2	5,0	-	-	2	3,2
INH RMP EMB SM ETO KM CM CFX OFX PAS	2	5,0	2	9,1	4	6,5
INH RMP EMB SM PZA ETO KM CFX OFX PAS	2	5,0	-	-	2	3,2
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX</b>	<b>3</b>	<b>7,5</b>	<b>4</b>	<b>18,2</b>	<b>7</b>	<b>11,3</b>
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX PAS</b>	<b>5</b>	<b>12,5</b>	-	-	<b>5</b>	<b>8,1</b>
INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM CFX OFX	4	10,0	2	9,1	6	9,7
Outros	22	55,0	14	63,6	36	58,1

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Abreviaturas: AM=amicacina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, MFV=moxifloxacina, OFX=ofloxacina, PAS=ácido para-aminosalicílico, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina.

O padrão de resistência simultânea à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX e PAS, foi o mais frequente em co-infectados por VIH e o padrão de resistência simultânea à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX e OFX, foi o mais constante em imunocompetentes. Em 36 doentes (22 co-infectados e 14 imunocompetentes) o padrão de resistência foi único, diferente de todos os outros.

Na tabela 22, caracterizam-se as resistências, nos doentes com história de TB no passado, sensível aos antibacilares e que foi incorrectamente tratada. O padrão mais frequente nos doentes com TB MR, combinou a resistência à INH, RMP, EMB e SM quer em co-infectados, quer em imunocompetentes. Nos doentes com TB ER o padrão mais frequente, em co-infectados por VIH, combinou as resistências à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KAM, CM, AM, CFX, OFX e PAS enquanto que em imunocompetentes nenhum padrão se destacou. Em 29 doentes (21 co-infectados por VIH e oito imunocompetentes) o padrão de resistência foi diferente de todos os outros e em quatro deles (todos co-infectados por VIH) com resistência *in vitro* a todos os fármacos testados (TB TR).

Tabela 22 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR ou TB ER e com história de TB no passado incorrectamente tratada

Padrões de resistência aos antibacilares	Co-infectados por VIH (n=103)		Imunocompetentes (n=19)		Total (n=122)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP	9	8,7	0	0,0	9	7,4
INH RMP EMB	4	3,9	2	10,5	6	4,9
INH RMP EMB PZA	2	1,9	0	0,0	2	1,6
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>40</b>	<b>38,8</b>	<b>4</b>	<b>21,1</b>	<b>44</b>	<b>36,1</b>
INH RMP EMB SM ETO OFX	2	1,9	1	5,3	3	2,5
INH RMP EMB SM PZA	5	4,9	0	0,0	5	4,1
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>2</b>	<b>10,5</b>	<b>2</b>	<b>1,6</b>
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX PAS</b>	<b>4</b>	<b>3,9</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>4</b>	<b>3,3</b>
INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM CFX OFX	2	1,9	0	0,0	2	1,6
INH RMP PZA	4	3,9	1	5,3	5	4,1
INH RMP SM	8	7,8	1	5,3	9	7,4
INH RMP SM PZA	2	1,9	0	0,0	2	1,6
Outros	21	20,4	8	42,1	29	23,8

n - número de observações usado no cálculo das percentagens

Abreviaturas: AM=amicacina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, OFX=ofloxacina, PAS=ácido para-aminosalicílico, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina.

Na tabela 23 caracterizam-se as resistências, nos doentes sem história de TB no passado ou com história de TB sensível aos antibacilares que foi tratada e curada. O padrão que combinou a resistência à INH, RMP, EMB e SM foi, de igual modo, o mais frequente nos co-infectados e nos imunocompetentes com TB MR. Nos doentes com

TB ER, a combinação mais frequente, em ambos os grupos de doentes, foi a de resistência conjunta à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KAN, CM, AM, CFX e OFX. Em 33 doentes (19 co-infectados por VIH e 14 imunocompetentes), o padrão de resistência foi diferente de todos os outros e em cinco (três co-infectados por VIH e dois imunocompetentes) com resistência *in vitro* a todos os fármacos testados (TB TR).

**Tabela 23 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e 2ª linhas, nos doentes com TB MR ou TB ER, sem história de TB ou com TB sensível tratada e curada, no passado**

Padrões de resistência aos antibacilares	Co-infectados por VIH (n=134)		Imunocompetentes (n=55)		Total (n=189)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP	4	3,0	0	0,0	4	2,1
INH RMP EMB	6	4,5	1	1,8	7	3,7
INH RMP EMB ETO	2	1,5	0	0,0	2	1,1
INH RMP EMB PZA	1	0,7	1	1,8	2	1,1
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>61</b>	<b>45,5</b>	<b>15</b>	<b>27,3</b>	<b>76</b>	<b>40,2</b>
INH RMP EMB SM ETO	1	0,7	5	9,1	6	3,2
INH RMP EMB SM ETO CFX OFX	1	0,7	1	1,8	2	1,1
INH RMP EMB SM ETO KM CM AM CFX OFX	2	1,5	1	1,8	3	1,6
INH RMP EMB SM PZA	6	4,5	4	7,3	10	5,3
INH RMP EMB SM PZA ETO CFX	0	0,0	2	3,6	2	1,1
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX</b>	<b>3</b>	<b>2,2</b>	<b>2</b>	<b>3,6</b>	<b>5</b>	<b>2,6</b>
INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM CFX OFX	2	1,5	2	3,6	4	2,1
INH RMP ETO	1	0,7	1	1,8	2	1,1
INH RMP PZA	4	3,0	0	0,0	4	2,1
INH RMP PZA ETO KM CM AM	2	1,5	0	0,0	2	1,1
INH RMP SM	14	10,4	5	9,1	19	10,1
INH RMP SM ETO	2	1,5	1	1,8	3	1,6
INH RMP SM PZA	3	2,2	0	0,0	3	1,6
Outros	19	14,2	14	25,5	33	17,5

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Abreviaturas: AM=amicacina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, OFX=ofloxacina, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina.

#### 5.2.5.4. Tempo para o diagnóstico

Investigaram-se as variáveis no tempo, que determinaram e influenciaram o momento do diagnóstico microbiológico (tabela 24).

Nos doentes com TB pulmonar e primeiro exame directo da expectoração negativo, analisou-se o tempo mediano até ao primeiro exame directo da expectoração positivo (nos que vieram a positivar). A mediana foi de 12 dias para os co-infectados por VIH e de quatro dias para os imunocompetentes, não se encontrando diferença estatisticamente significativa.

**Tabela 24 - Intervalos de tempo que decorreram até ao diagnóstico microbiológico de TB e até ao de TB MR ou TB ER e tempo de doença sem diagnóstico definitivo**

Tempo (dias)	N	Co-infectados por VIH	Imunocompetentes	Total	P-valor
		Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	
Tempo entre o 1º exame directo negativo e o 1º positivo, em doentes com TB pulmonar	75	12 (4; 58)	4 (4; 4)	11 (4; 51)	0,100
Tempo entre o 1º exame directo positivo e a data da informação de MR, em doentes com TB pulmonar	147	32 (24; 45)	29 (19; 56)	31 (23; 48)	0,374
Tempo entre o 1º exame directo negativo e a cultura positiva em doentes com TB pulmonar e exame directo sempre negativo	70	37 (13; 44)	42 (24; 57)	40 (23,5; 57)	0,425
Tempo entre o 1º exame directo (positivo ou negativo) e a data da informação de MR	311	47 (31; 72.5)	35 (25; 58)	45 (29; 70)	0,004
Tempo entre o 1º exame cultural positivo e a data da informação de MR	311	17 (12; 23)	15 (12; 25)	16 (12; 23)	0,564
Tempo entre a data do internamento e a informação de MR	311	45 (30; 70)	32 (11,3; 54,8)	42 (28,4;66,5)	0,042
Tempo de doença não diagnosticada	311	78 (51; 113)	76 (54; 120)	77 (51; 119)	0,615
Tempo de doença não diagnosticada, em doentes com TB pulmonar	292	77 (50; 116)	74 (54; 120)	76 (51; 119)	0,620
Tempo de doença não diagnosticada em doentes com TB extrapulmonar	19	91 (53; 106)	99 (55; 209)	91 (53; 130)	0,804
Tempo entre o início do tratamento da TB anterior sensível aos antibacilares e a informação de MR	122	423 (251; 1069)	1036 (631; 2616)	534 (378; 1708)	0,001

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens; IIQ=intervalo inter-quartil

O tempo que mediou entre o primeiro exame directo da expectoração positivo e a data da informação de MR, em doentes com TB pulmonar, foi, também, analisado e, de novo, não se encontraram diferenças, estatisticamente, significativas, sendo esse tempo mediano, de 32 dias para os co-infectados por VIH e de 29 dias para os imunocompetentes.

Também se investigou o tempo entre o primeiro exame directo negativo e a primeira cultura positiva, nos doentes com TB pulmonar e exame directo da expectoração sempre negativo, o qual foi de 37 dias para os co-infectados por VIH e de 42 dias para os imunocompetentes, não se verificando diferença, estatisticamente, significativa.

O tempo mediano entre o primeiro exame directo da expectoração (positivo ou negativo) e a data da identificação de MR foi de 47 dias para os co-infectados por VIH e de 35 dias para os imunocompetentes, verificando-se diferença, estatisticamente, significativa.

O tempo mediano entre o primeiro exame cultural positivo e a data da identificação e informação da presença de MR, foi de 17 dias para os co-infectados e de 15 dias para os imunocompetentes. Esta diferença não foi considerada, estatisticamente, significativa.

O tempo entre a data de internamento e a informação da presença de MR foi de 45 dias para os co-infectados e de 32 dias para os imunocompetentes, significando um tempo de internamento, em média, de 42 dias, quando a informação ficou disponível.

A diferença no tempo, foi considerada, estatisticamente, significativa entre os grupos.

O tempo mediano de doença não diagnosticada, definido pelo período entre o início dos sintomas e/ou dos sinais e a data do diagnóstico de TB MR ou de TB ER, foi idêntico para ambos os grupos (78 dias e 76 dias, respectivamente, em co-infectados e imunocompetentes), não parecendo ser factor de distinção entre eles. Para os doentes com TB pulmonar foi de 77 dias em co-infectados e de 74 dias em imunocompetentes e para os doentes com TB extrapulmonar, de 91 e 99 dias, respectivamente em co-infectados e em imunocompetentes, não se verificando, de igual modo, diferenças, estatisticamente, significativas.

Nos 122 doentes com TB prévia, sensível aos antibacilares, incorrectamente tratada por má adesão ou por interrupção, comparando entre co-infectados e imunocompetentes, em relação ao tempo mediano que decorreu até à data da informação de MR, existe uma diferença, estatisticamente, significativa ( $p$ -valor = 0,001). Para os co-infectados, esse tempo mediano foi de 423 dias (IIQ = 251-1069), ou seja de 14 meses (IIQ = 8-35 meses), enquanto para os imunocompetentes, foi de quase o dobro, com tempo mediano de 1.036 dias (IIQ = 631-2616), o que equivale a 34 meses (IIQ = 21-86 meses).

##### **5.2.5.5. Diagnóstico subsequente à morte**

Em 84 doentes (27,0%) a data do diagnóstico de TB MR ou de TB ER foi posterior à data da morte. Nos co-infectados por VIH, a percentagem desses óbitos foi superior à dos imunocompetentes (32,1% vs 10,8%), correspondendo a 76 e a oito doentes, respectivamente, o que é, estatisticamente, significativo. As diferenças foram, de igual modo, significativas (31,4% em co-infectados vs 9,1% em imunocompetentes) ou seja

71 e seis doentes, respectivamente, quando analisados apenas os doentes com TB pulmonar. Nos doentes com TB extrapulmonar, a diferença no número de óbitos não foi considerada, estatisticamente, significativa (tabela 25).

**Tabela 25 - Doentes com diagnóstico de TB MR e TB ER (pulmonar ou extrapulmonar), subsequente à morte**

População de doentes	n	Co-infectados por VIH	Imunocompetentes	Total	P-valor
		n (%)	n (%)	n (%)	
Total	311	76 (32,1)	8 (10,8)	84 (27,0)	<0,001
TB pulmonar	292	71 (31,4)	6 (9,1)	77 (26,4)	<0,001
TB extrapulmonar	19	5 (45,5)	2 (25,9)	7 (36,8)	0,672

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

## 5.2.6. RESULTADOS DO TRATAMENTO

### 5.2.6.1. Regimes terapêuticos em doentes com diagnóstico presuntivo

Dos doentes que tiveram TB prévia sensível aos antibacilares e que foi incorrectamente tratada, 114 de 122 (93,4%), iniciaram regimes terapêuticos com diagnóstico presuntivo, por suspeita de TB MR ou de TB ER. Dos doentes sem história de TB anterior ou com história de TB tratada e curada iniciaram tratamento, com diagnóstico presuntivo, de igual modo, por suspeita de TB MR ou TB ER, 165 de 189 (87,3%). Esta diferença só é significativa quando se considera um nível de significância estatística de 10% (p-valor = 0,09). De entre os 279 doentes que iniciaram regimes terapêuticos com diagnóstico presuntivo, 214 (76,7%) eram co-infectados por VIH e 65 (23,3%) eram imunocompetentes.

### 5.2.6.2. Regimes terapêuticos em doentes com diagnóstico definitivo

Em 84 doentes (27,0%) o diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER foi posterior à morte, pelo que não chegaram a iniciar tratamento. Em 56 doentes com diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER que iniciaram tratamento (18,0%), a informação relativamente aos regimes terapêuticos utilizados não estava disponível. Nos restantes 171 (55,0%) com dados completos, o número médio de regimes prescritos, por doente, foi de 1,52 (DP de 0,6), mediana de 1 (com IIQ compreendido entre 1-2), parecendo haver uma tendência para que aos co-infectados tenha sido prescrito um número maior de regimes terapêuticos do que aos imunocompetentes, mas que só foi significativa a 10% (p-valor = 0,07). Pormenorizando o número médio de regimes



terapêuticos, que foram prescritos, sucessivamente, para o mesmo doente com diagnóstico definitivo, ele foi, nos co-infectados, de um regime em 67 (53,6%) doentes, de dois regimes em 49 (39,2%) e de três regimes em 9 (7,2%), enquanto que nos imunocompetentes foi de um regime em 30 (65,3%), de dois regimes em 10 (21,7%) e de três regimes em seis (13,0%). Comparando doentes com TB MR ou com TB ER, a média/mediana de regimes terapêuticos por doente, com diagnóstico definitivo, foi de um para os primeiros e de dois para os segundos. Este resultado foi, estatisticamente, significativo (p-valor = 0,002).

### 5.2.6.3. Adesão à terapêutica e cura

Em 137 doentes com diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER, que iniciaram terapêutica, havia informação quanto à adesão ao tratamento, baseada no interrogatório e na história clínica. Oitenta e nove (65%) tiveram boa adesão, dos quais 64 (71,9%) eram co-infectados por VIH e 25 (28,1%) eram imunocompetentes. Quarenta e oito (35%) tiveram má adesão, dos quais 32 (66,7%) eram co-infectados por VIH e 16 (33,3%) eram imunocompetentes (tabela 26). Não parece existir diferenças entre boa e má adesão, nos co-infectados por VIH e nos imunocompetentes (p-valor = 0,561).

**Tabela 26 - Taxas de adesão à terapêutica em doentes com diagnóstico definitivo de TB MR e de TB ER**

<b>Doentes (n=137)</b>	<b>Boa adesão (n =89)</b>	<b>Má adesão (n =48)</b>	<b>P-valor</b>
Co-infectados por VIH (%)	64 (71,9)	32 (66,7)	0,561
Imunocompetentes (%)	25 (28,1)	16 (33,3)	-
<b>Doentes (n=137)</b>	<b>TB MR (n=97)</b>	<b>TB ER (n=40)</b>	<b>P-valor</b>
Boa adesão (%)	70 (72,2)	19 (47,5)	0,006
Má adesão (%)	27 (27,8)	21 (52,5)	-
Co-infectados por VIH e boa adesão (%)	53 (54,6)	11 (27,5)	0,019
Co-infectados por VIH e má adesão (%)	17 (17,5)	15 (37,5)	-
Imunocompetentes e boa adesão (%)	17 (17,5)	8 (20,0)	-
Imunocompetentes e má adesão (%)	10 (10,3)	6 (15,0)	-

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Combinando a adesão à terapêutica com o tipo de resistência (TB MR ou TB ER) foi encontrada uma associação, estatisticamente, significativa (p-valor = 0,006). Os casos de boa adesão foram mais frequentes nos doentes com TB MR (72,2%), enquanto que a má adesão foi mais frequente entre os doentes com TB ER (52,5%). Quando se

combina a adesão à terapêutica com o grupo de doentes (co-infectados por VIH ou imunocompetentes) e com o tipo de resistência (TB MR ou TB ER), a associação mantém-se, de igual modo, significativa (p-valor = 0,019).

Quando se relaciona a adesão à terapêutica com a taxa de cura, a informação estava disponível, apenas, para 129 doentes (90 co-infectados e 39 imunocompetentes) e não foi possível estabelecer qualquer associação entre as duas variáveis (tabela 27). Quer para co-infectados, quer para imunocompetentes não se encontraram diferenças com valor estatístico significativo embora a taxa de cura em doentes com boa adesão ou em doentes com má adesão fosse sempre mais alta para imunocompetentes do que para co-infectados.

**Tabela 27 - Taxas de cura em doentes com TB MR ou TB ER, com boa e má adesão à terapêutica**

Total de doentes (n=129)	Boa adesão (n=84)	Má adesão (n=45)	P-valor
	n (%)	n (%)	
<b>Co-infectados por VIH (n=90)</b>			
Não curados	48 (78,7)	18 (62,1)	0,096
Curados	13 (21,3)	11 (37,9)	-
<b>Imunocompetentes (n=39)</b>			
Não curados	4 (17,4)	5 (31,3)	0,444
Curados	19 (82,6)	11 (68,8)	-

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

#### 5.2.6.4. Toxicidade e adesão à terapêutica

Nos 137 doentes que iniciaram tratamento para TB MR ou TB ER e em que havia informação quanto à adesão à terapêutica, verificaram-se 40 casos (29,2%) de toxicidade, dos quais 11 (12,4%) em doentes que tiveram boa adesão e 29 (60,4%) em doentes que tiveram má adesão. Esta diferença foi, estatisticamente, significativa (tabela 28). Os casos de toxicidade, em doentes com má adesão à terapêutica, foram de 20 (62,5%) em co-infectados por VIH e de nove (56,3%) em imunocompetentes. Os casos de toxicidade, naqueles que tiveram boa adesão foram de oito (12,5%) em co-infectados e de três (12,0%) em imunocompetentes. Assim, constatou-se maior número de casos de toxicidade entre os doentes que têm má adesão ao tratamento, do que entre os doentes que têm boa adesão e isto verifica-se quer em co-infectados, quer em imunocompetentes. Estes resultados foram, estatisticamente, significativos.

**Tabela 28 - Toxicidade em doentes com TB MR ou TB ER, com boa e má adesão à terapêutica**

Doentes (n=137)	Boa adesão (n=89)	Má adesão (n=48)	P-valor
	n (%)	n (%)	
Toxicidade	11 (12,4)	29 (60,4)	<0,001
Co-infectados por VIH (n=96)	8 (12,5)	20 (62,5)	<0,001
Imunocompetentes (n=41)	3 (12,0)	9 (56,3)	0,004
TB MR (n=97)	8 (11,4)	18 (66,7)	<0,001
TB ER (n=40)	3 (15,8)	11 (52,4)	0,022
Doentes (n=137)	TB MR (n=97)	TB ER (n=40)	P-valor
	n (%)	n (%)	
Toxicidade	26 (26,8)	14 (35,0)	0,337

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Conjugando a toxicidade com o tipo de resistência, verificaram-se 26 casos de toxicidade (26,8%) nos doentes com TB MR e 14 casos (35,0%) nos doentes com TB ER, não sendo estas diferenças, estatisticamente, significativas (p-valor = 0,337). Nos 28 doentes co-infectados por VIH em que se registou toxicidade à terapêutica antituberculosa, 16 (57,1%) faziam, em simultâneo, TARV.

#### 5.2.6.5. Terapêutica antirretrovírica e taxas de cura

Em 224, dos 237 doentes co-infectados por VIH, avaliou-se a relação da TARV em simultâneo com as taxas de cura da TB MR e da TB ER (tabela 29). Em 82 doentes sob TARV, antes do diagnóstico de TB MR ou de TB ER e que não a suspenderam ou que iniciaram TARV na fase de indução do tratamento da TB, 20 (24,4%) curaram, enquanto 62 (75,6%) não curaram. Em 142 doentes sem TARV prévia ao diagnóstico de TB MR ou de TB ER ou que a interromperam, na fase de indução do tratamento da TB, 10 (7,0%) curaram e 132 (93,0%) não curaram.

Comparando os doentes que mantiveram a TARV prévia ou que a iniciaram de novo, com os que não estavam sob TARV ou que a interromperam, a percentagem de cura foi maior para os primeiros (24,4% vs 7,0%) e esta diferença foi, estatisticamente, significativa (p-valor < 0,001).

**Tabela 29 - Relação entre doentes com e sem TARV e TB MR ou TB ER e as taxas de cura da TB**

Doentes (n=224)	Com TARV prévia ou iniciada na fase de indução do tratamento da TB (n=82)	Sem TARV prévia ou que foi interrompida (n=142)	P-valor
	n (%)	n (%)	
Não curados	62 (75,6)	132 (93,0)	<0,001
Curados	20 (24,4)	10 (7,0)	-

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

TARV – terapêutica antirretrovírica

## 5.2.6.6. Taxas de cura

Os resultados do tratamento são apresentados na tabela 30. Esta análise foi realizada em 286 doentes, para os quais havia informação disponível (25 doentes consideraram-se perdidos no seguimento), incluindo os 84 doentes cuja data de diagnóstico de TB MR ou TB ER foi posterior à data da sua morte. A percentagem de doentes curados foi de 13,4%, para os co-infectados por VIH e de 62,9% para os imunocompetentes. Inversamente, a percentagem de doentes não curados foi de 86,6% para os co-infectados e de 37,1% para os imunocompetentes. Esta diferença foi considerada, estatisticamente, significativa a 5%.

**Tabela 30 - Evolução dos doentes com TB MR e com TB ER, submetidos a terapêutica antituberculosa**

Doentes (n = 286)	Co-infectados por VIH (n=224)	Imunocompetentes (n=62)	P-valor
	n (%)	n (%)	
Não curados	194 (86,6)	23 (37,1)	<0,001
Curados	30 (13,4)	39 (62,9)	-
<b>Com TB MR (n=228)</b>			
Não curados	166 (89,3)	15 (35,7)	<0,001
Curados	20 (10,8)	27 (64,3)	-
<b>Com TB ER (n=58)</b>			
Não curados	28 (73,7)	8 (40,0)	-
Curados	10 (27,0)	12 (60,0)	0,010
<b>Curados (n=69):</b>			
Sem TB prévia ou com TB anterior tratada (n=47)	16 (53,3)	31 (79,5)	0,020
Com TB anterior não tratada (n=22)	14 (46,7)	8 (20,5)	-
TB pulmonar (n=63)	28 (93,3)	35 (89,7)	0,690
TB extrapulmonar (n=6)	2 (6,7)	4 (10,4)	-

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

As taxas de cura foram caracterizadas, conforme se tratasse de TB MR ou de TB ER. Nos doentes com TB MR (n=228), as taxas de cura nos co-infectados foi de 10,8% e nos

imunocompetentes de 64,3%. Nos doentes com TB ER (n=58) essas mesmas taxas de cura foram, respectivamente, de 27,0% e de 60,0%. Em ambos os subgrupos de doentes, as diferenças nas taxas de cura foram, estatisticamente, significativas, sendo maiores para o grupo dos imunocompetentes.

Por outro lado, foi caracterizada a percentagem de doentes curados entre aqueles que tinham história de TB prévia, sensível aos antituberculosos, incorrectamente tratada (n=22) e entre os que não tinham história de TB anterior ou em que esta não era relacionável por ter sido tratada e curada havia mais de quatro anos (n=47). Foi encontrada uma diferença significativa entre os co-infectados e os imunocompetentes, sendo a percentagem de curados entre os doentes com TB anterior sensível aos antituberculosos e incorrectamente tratada, muito superior para os doentes co-infectados por VIH (46,7% vs 20,5%).

Por último, nos co-infectados por VIH e nos imunocompetentes foram calculadas as percentagens de doentes curados com TB pulmonar ou TB extrapulmonar. Dos 69 doentes curados, 63 tinham TB pulmonar e seis tinham TB extrapulmonar. As percentagens de doentes curados entre os co-infectados por VIH e entre os imunocompetentes com TB pulmonar foram de 93,3% e 89,7%, respectivamente. Esta diferença não foi, estatisticamente, significativa.

Todos os doentes que não curaram (n=217) já faleceram, enquanto 54 (78,3%) dos 69 que curaram, permanecem vivos.

#### **5.2.6.7. Taxas de cura nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012**

Avaliaram-se as taxa de cura em dois períodos distintos, de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012, já que a disponibilização, por rotina, de testes de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha, só ocorreu em meados de 2000 e, por efeito, condicionou o diagnóstico de TB ER e pode ter afectado negativamente o tratamento da TB MR antes dessa data, ou seja, não é de excluir que até 2000, muitos dos doentes tratados para TB MR tivessem na verdade TB ER. Por outro lado, também a disponibilização por rotina de testes de diagnóstico molecular, na prática clínica, a partir de 2010, permitiu, desde então, o diagnóstico mais rápido da MR, podendo ter influenciado positivamente o tratamento e a cura desta.

De 200 doentes internados, de 1993 a 2000, 180 tinham informação disponível sobre o resultado da terapêutica (171 com TB MR e nove com o diagnóstico de TB ER). Neste período, o teste de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha só foi realizado em 24 doentes com TB MR. De 111 doentes internados entre 2001 a 2012, 106 tinham a informação disponível, dos quais 57 com TB MR e 49 com o diagnóstico de TB ER (tabela 31). Neste período o teste de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha foi realizado em todos os doentes.

Em ambos os períodos de tempo, a percentagem de doentes curados foi sempre maior para os imunocompetentes do que para co-infectados por VIH. De 1993 a 2000, essa percentagem foi de 61,5% para os imunocompetentes e de 9,1% para os co-infectados por VIH. Na década seguinte, a percentagem de doentes curados subiu, sendo para os imunocompetentes de 63,9% e de 22,9% para os co-infectados por VIH. Em ambos os períodos, essas diferenças foram, estatisticamente, significativas.

**Tabela 31 - Evolução de doentes com TB MR e TB ER submetidos a terapêutica antituberculosa, nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012**

períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012			
População de doentes	Co-infectados por VIH	Imunocompetentes	P-valor
	n (%)	n (%)	
1993 a 2000 (n=180)			
Não curados	140 (90,9)	10 (38,5)	<0,001
Curados	14 (9,1)	16 (61,5)	-
Com TB MR (n=171)			
Não curados	136 (91,3)	7 (31,8)	<0,001
Curados	13 (8,7)	15 (68,2)	-
Com TB ER (n=9)			
Não curados	4 (80,0)	3 (75,0)	1,000
Curados	1 (20,0)	1 (25,0)	-
2001 a 2012 (n=106)			
Não curados	54 (77,1)	13 (36,1)	<0,001
Curados	16 (22,9)	23 (63,9)	-
Com TB MR (n=57)			
Não curados	30 (81,1)	8 (40,0)	0,003
Curados	7 (18,9)	12 (60,0)	-
Com TB ER (n=49)			
Não curados	24 (72,7)	5 (31,3)	0,012
Curados	9 (27,3)	11 (68,8)	-

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Para os doentes com TB MR, as taxas de cura foram sempre maiores entre os imunocompetentes, em comparação com as dos co-infectados por VIH, com diferenças, estatisticamente, significativas em ambos os períodos temporais (antes de

2000, 8,7% em co-infectados vs 68,2% em imunocompetentes e a partir de 2001, 18,9% em co-infectados por VIH vs 60,0% em imunocompetentes). Para os doentes com TB ER, as taxas de cura foram, de igual modo, sempre maiores para os imunocompetentes, com diferença, estatisticamente, significativa, quando se analisa o período de 2001 a 2012. No período de 1993 a 2000, aquele resultado não foi, estatisticamente, significativo devido ao tamanho reduzido da amostra.

Para comparar o efeito do período temporal nas taxas de cura foi aplicado um modelo de regressão logística, entrando em consideração com o tipo de doente (co-infectado por VIH ou imunocompetente), o tipo de resistência e a eventual interacção entre o período temporal e o tipo de doente. Os resultados foram apresentados em termos de razão de chances ou *odds ratio* (OR), intervalos de confiança a 95% e p-valores (tabela 32).

**Tabela 32 - Efeito do tipo de doente, do período temporal e do tipo de resistência nas taxas de cura**

Variáveis testadas	OR	Intervalo de confiança 95%	P-valor
Co-infectados por VIH vs imunocompetentes	0.10	(0,05; 0,199)	<0,001
1993-2000 vs 2001-2012	1.41	(0,70; 2,84)	0,334
TB ER vs TB MR	1.54	(0,70; 3,37)	0,283

OR – Odds ratio

Embora sem diferença, estatisticamente, significativa (p-valor = 0,334), os resultados apontam para melhores taxas de cura no período de 2001 a 2012, isto é o OR significa que a possibilidade de cura é 1,41 vezes maior do que no período de 1993 a 2000. A circunstância de se tratar de TB MR ou de TB ER, em qualquer dos períodos, não se revelou um factor, estatisticamente, significativo na comparação de quem curou ou não curou (p-valor = 0,283). Os co-infectados por VIH têm 10 vezes maior possibilidade ( $1/0.1=10$ ) de não curarem, comparativamente aos imunocompetentes, resultado que foi, estatisticamente, significativo, a qualquer nível de significância (p-valor < 0,001) e independente do período de tempo.

#### 5.2.6.8. Mortalidade e sobrevivência

A análise da sobrevivência global dos doentes foi feita, considerando-se como tempo mediano de sobrevivência aquele entre a data do diagnóstico e a data da morte ou a

data de 31 de Dezembro de 2012, para os que se encontravam vivos, tendo sido excluídos aqueles com diagnóstico posterior àquela data.

As probabilidades de sobrevivência foram avaliadas, usando o estimador de Kaplan-Meier. As curvas de Kaplan-Meier foram estimadas para a variável tipo de doente (co-infectado por VIH ou imunocompetente), para o cruzamento desta com a variável tipo de resistência (TB MR ou TB ER) e para o cruzamento de ambas, com a existência ou não de história de TB sensível anterior, incorrectamente tratada. Para comparar as curvas de sobrevivência dos grupos, recorreu-se ao teste de Log-rank, tendo sido utilizado um nível de significância de 5% (tabela 33 e figuras 8 a 10).

**Tabela 33 - Tempo mediano de sobrevivência e probabilidades de sobrevivência dos co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER e com ou sem história de TB anterior, incorrectamente tratada**

Doentes (n=227)	Tempo mediano de sobrevivência (meses)*	Probabilidades de sobrevivência (%)						
		3 meses	6 meses	9 meses	1 ano	2 anos	3 anos	5 anos
Co-infectados por VIH	4,6	61,0	47,0	41,0	39,0	29,0	26,0	23,0
Imunocompetentes	91,0	97,0	91,0	89,0	86,0	84,0	79,0	73,0
Co-infectados com TB MR	3,2	54,0	37,0	31,0	29,0	22,0	22,0	20,0
Co-infectados com TB ER	25,3	84,0	76,0	70,0	70,0	53,0	39,0	33,0
Imunocompetentes com TB MR	113,5	95,0	92,0	92,0	89,0	86,0	81,0	77,0
Imunocompetentes com TB ER	74,0	100,0	90,0	85,0	80,0	80,0	75,0	64,0
Co-infectados com TB MR e com TB prévia	3,2	52,0	36,0	30,0	28,0	22,0	22,0	20,0
Co-infectados com TB MR e sem TB prévia	3,3	56,1	37,9	31,8	30,3	21,7	21,7	19,7
Co-infectados com TB ER e com TB prévia	30,6	95,7	87,0	82,6	82,6	60,9	47,8	39,1
Co-infectados com TB ER e sem TB prévia	6,7	64,3	57,1	49,0	49,0	40,8	21,8	21,8
Imunocompetentes com TB MR e com TB prévia	68,9	100,0	100,0	100,0	90,0	90,0	90,0	80,0
Imunocompetentes com TB MR e sem TB prévia	118,7	92,6	88,9	88,9	88,9	85,2	77,1	77,1
Imunocompetentes com TB ER e com TB prévia	60,0	100,0	100,0	100,0	85,7	85,7	71,4	42,9
Imunocompetentes com TB ER e sem TB prévia	78,9	100,0	84,6	76,9	76,9	76,9	76,9	76,9

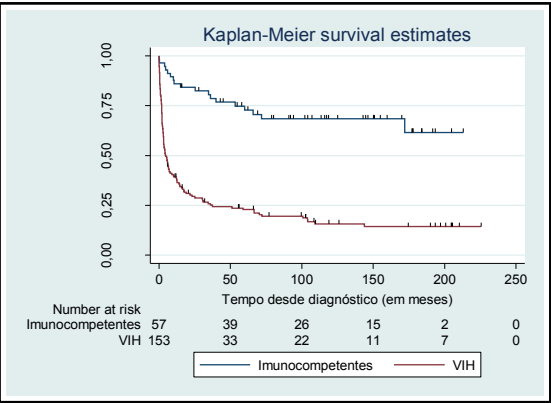
*n - número de observações usado no cálculo das percentagens \*sem ter em conta os dados censurados*

As probabilidades de sobrevivência (%) cumulativas foram calculadas a três meses, a seis meses, a nove meses, a um, dois, três e cinco anos e, ainda, é apresentado o tempo mediano até à morte (em meses), em cada grupo, de forma descritiva (tabela 33). Em cada figura, é apresentado um pequeno quadro, com o número de doentes que se encontravam em risco, ao longo do tempo. As pequenas marcas assinaladas nas figuras, representam os momentos a partir dos quais se perderam os doentes (por morte ou por desconhecimento do destino). A probabilidade de sobreviver, a um ano,

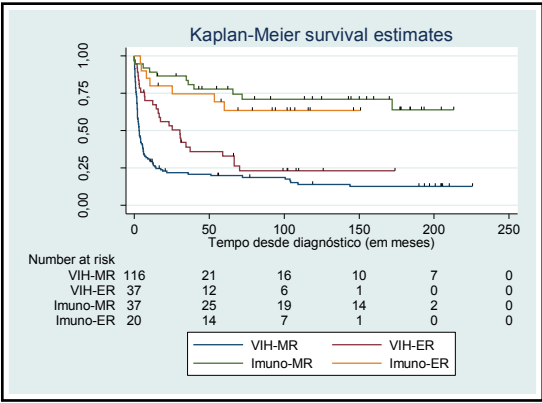


foi para os co-infectados por VIH de 39%, enquanto que para os imunocompetentes foi de 86%.

As curvas de sobrevivência, entre estes dois grupos de doentes, encontram-se assinaladas na figura 8. Segundo o teste de Log-rank elas são, estatisticamente, diferentes ( $p$ -valor  $< 0,001$ ), sendo a dos co-infectados por VIH muito mais abrupta, o que se traduz, num maior risco de morte, do que para os imunocompetentes. A dois anos, as mesmas probabilidades, foram de 29% e 84%, respectivamente para co-infectados por VIH e para imunocompetentes. A mediana do tempo de sobrevivência entre o diagnóstico e a morte foi de 4,6 meses para os co-infectados por VIH e de 91 meses para os imunocompetentes. Estes valores foram obtidos para a totalidade da amostra, não se tendo feito a exclusão dos doentes que abandonaram o tratamento ou que continuavam vivos, após o final do período de observação (dados não censurados). Tendo em conta os dados censurados, consegue-se estimar, apenas, a sobrevivência mediana para os co-infectados, sendo esse tempo, por coincidência, igualmente, de 4,6 meses.



**Figura 8 - Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes**

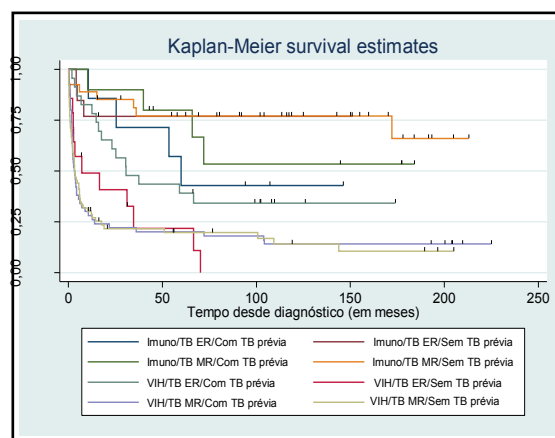


**Figura 9 - Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER**

Obtiveram-se as curvas de sobrevivência cruzando o tipo de doente com o tipo de resistência (figura 9). As curvas foram, também, estatisticamente, significativas ( $p$ -valor  $< 0,001$ ). Os doentes co-infectados por VIH e TB MR têm as curvas de sobrevivência mais abruptas, seguidos dos doentes co-infectados por VIH e TB ER, isto é têm um risco mais elevado de morrer a cada instante, do que os outros doentes. As probabilidades de sobrevivência, a um ano, foram de 29% para os co-infectados por

VIH e TB MR, de 70% para os co-infectados por VIH e TB ER, de 89% para os imunocompetentes com TB MR e de 80% para os imunocompetentes com TB ER. A dois anos, as mesmas probabilidades, foram, respectivamente, de 22%, de 53%, de 86% e de 80%. Outros pontos no tempo, poderão ser interpretados de forma idêntica e estão assinaladas na tabela 33.

Por fim, obtiveram-se as curvas de sobrevivência, cruzando co-infectados por VIH e imunocompetentes com o tipo de resistência (TB MR ou TB ER) e com a presença ou ausência de TB prévia, incorrectamente tratada, configurando um total de oito tipos de doentes (figura 10).



**Figura 10 - Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes, com TB MR ou TB ER e com ou sem história de TB anterior incorrectamente tratada**

As curvas sobrepõem-se um pouco e, em alguns dos perfis, o número de doentes é reduzido. No entanto, os doentes em maior risco de morte parecem ser, por ordem decrescente, os co-infectados por VIH com TB MR, com e sem TB anterior (curvas bastante sobrepostas), os co-infectados por VIH com TB ER e sem TB anterior, os co-infectados por VIH com TB ER e com TB anterior, os imunocompetentes com TB ER e com TB anterior, os imunocompetentes com TB MR e com TB anterior, os imunocompetentes com TB ER e sem TB anterior e, finalmente, os imunocompetentes com TB MR e sem TB anterior ( $p$  Log-rank < 0,001;  $p$  Wilcoxon < 0,001), sendo as diferenças estatisticamente significativas.

### 5.2.6.9. Mortalidade e sobrevivência nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012

Analísamos a sobrevivência nos períodos de 1993 a 2000 (n=200) e de 2001 a 2012 (n=111). Para ambos os períodos de tempo são apresentados os tempos medianos de sobrevivência e as probabilidades de sobrevivência a seis, 12 e 24 meses, para doentes imunocompetentes e para co-infectados por VIH e, conforme as características da TB —TB MR ou TB ER (tabela 34).

**Tabela 34 - Tempo mediano de sobrevivência e probabilidades de sobrevivência nos períodos temporais de 1993-2000 e 2001-2012**

Características dos doentes	Tempo mediano de sobrevivência (meses)	Probabilidades de sobrevivência (%)		
		6 meses	12 meses	24 meses
Ano 1993-2000 (n=200)				
Co-infectados por VIH	3,4	38,0	30,0	21,0
Imunocompetentes	*	96,0	92,0	88,0
TB MR	4,3	46,0	40,0	32,0
TB ER	53,4	100,0	78,0	67,0
Co-infectados com TB MR	3,3	34,8	27,0	19,1
Co-infectados com TB ER	25,3	100,0	80,0	60,0
Imunocompetentes com TB MR	*	95,2	95,2	90,5
Imunocompetentes com TB ER	53,4	100,0	75,0	75,0
Ano 2001-2012 (n=111)				
Co-infectados por VIH	14,8	59,0	54,0	43,0
Imunocompetentes	*	88,0	81,0	81,0
TB MR	36,0	60,0	53,0	51,0
TB ER	37,0	77,0	73,0	62,0
Co-infectados com TB MR	5,4	44,4	37,0	32,4
Co-infectados com TB ER	30,4	71,9	68,6	52,3
Imunocompetentes com TB MR	*	87,5	81,3	81,3
Imunocompetentes com TB ER	*	87,5	81,3	81,3

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

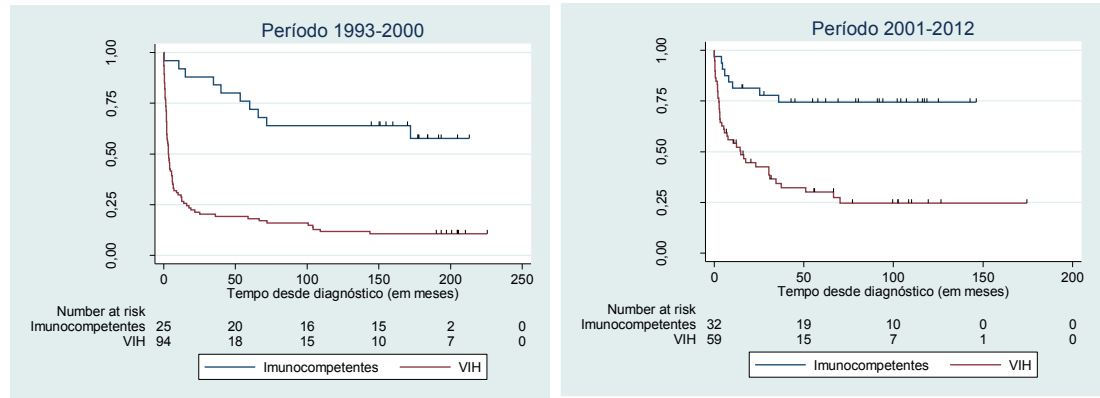
*\* não é possível estimar, devido ao peso que os dados censurados representam neste grupo*

O tempo mediano de sobrevivência para os co-infectados por VIH, no período temporal 1993-2000, foi de 3,4 meses, tempo que aumentou para 14,8 meses, no período temporal 2001-2012. Para os imunocompetentes, não se conseguiu estimar este valor, porque metade dos doentes da amostra sobrevivia. No período de 1993-2000, a probabilidade de ter sobrevivido a um ano foi de 92% para os

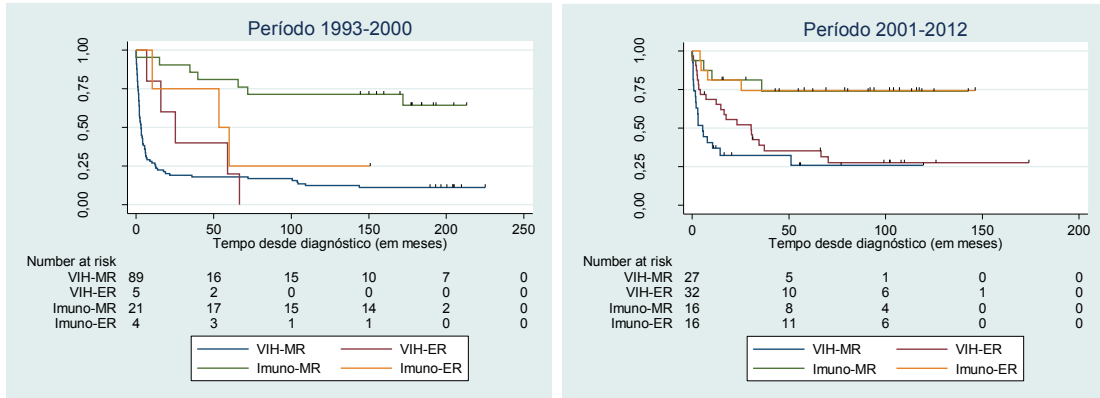
imunocompetentes e de 30% para os co-infectados por VIH, probabilidades que passaram, no período temporal de 2001-2012, a 81% e 54%, respectivamente.

De igual forma estimaram-se as probabilidades de sobrevivência a seis, 12 e 24 meses para os co-infectados por VIH e TB MR, co-infectados por VIH e TB ER, imunocompetentes com TB MR e imunocompetentes com TB ER.

As curvas de sobrevivência dos co-infectados por VIH e imunocompetentes, encontram-se registadas na figura 11 e as curvas de sobrevivência dos co-infectados ou imunocompetentes, conforme tivessem TB MR ou TB ER, são apresentadas na figura 12.



**Figura 11 - Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH e dos imunocompetentes, durante os períodos temporais de 1993 a 2000 (esquerda) e de 2001 a 2012 (direita)**



**Figura 12 - Curvas de sobrevivência dos doentes co-infectados por VIH com TB MR e com TB ER e dos doentes imunocompetentes com TB MR e com TB ER, durante os períodos temporais de 1993 a 2000 (esquerda) e de 2001 a 2012 (direita)**

As curvas de sobrevivência, em ambos os períodos temporais, foram diferentes e, estatisticamente, significativas entre co-infectados por VIH e imunocompetentes. Quando cruzado o tipo de doente com o tipo de resistência, as curvas foram, igualmente, diferentes e, estatisticamente, significativas ( $p$ -valor < 0,001, no período

de 1993-2000 e 0,002 no período de 2001-2012). As probabilidades de sobrevivência dos quatro grupos de doentes (co-infectados por VIH e TB MR, co-infectados por VIH e TB ER, imunocompetentes com TB MR e imunocompetentes com TB ER) foram diferentes, com as curvas de sobrevivência em ambos os períodos a serem mais abruptas por ordem decrescente para co-infectados por VIH e TB MR, co-infectados por VIH e TB ER, imunocompetentes com TB ER e imunocompetentes com TB MR.

Para avaliar a importância do período temporal, na sobrevivência dos doentes, usou-se um modelo de regressão de Cox que estudou a associação entre dois factores (tipo de doente e período temporal) e a taxa instantânea de morte. Os resultados são apresentados em termo de Hazard Ratios e respectivos intervalos de confiança de 95% e p-valores. Quer o tipo de doente (co-infectado por VIH ou imunocompetente), quer o período temporal revelaram-se, estatisticamente, significativos. Os co-infectados têm uma probabilidade 4,65 vezes maior de morrerem, do que os imunocompetentes (p-valor < 0,001). O período temporal de 2001-2012 é protector, relativamente ao risco de morte (tabela 35). No período temporal de 1993-2000, a probabilidade de morte por TB MR ou TB ER era 50% mais elevada ( $1/0.66=1.51$ ) do que no período temporal 2001-2012 (p-valor = 0,010).

**Tabela 35 - Efeito do tipo de doente (co-infectado e imunocompetente) e do período temporal nas probabilidades de sobrevivência**

Variáveis testadas	HR	Intervalo de confiança a 95%	P-valor
Co-infectados por VIH vs imunocompetentes	4.65	(2,82; 7,68)	<0,001
1993 - 2000 vs 2001 - 2012	0.66	(0,47; 0,92)	0,010

HR – Hazard Ratio

## 5.2.7. ESTUDO MOLECULAR

### 5.2.7.1. Caracterização genética das estirpes de *M. tuberculosis*

Por RFLP-IS6110, até 2002 e depois dessa data, por MIRU-VNTR, foi feita a caracterização genética de 92 estirpes de *M. tuberculosis* multirresistente ou extensivamente resistente, isoladas das culturas ainda viáveis e não contaminadas de sangue, expectoração, LBA, secreções brônquicas, suco gástrico, líquido, pús de

abcesso, tecido ganglionar e hepático, provenientes de igual número de doentes e recuperadas de 1993 a 2012.

Foram encontrados 24 perfis distintos. Assim, das 92 estirpes isoladas, 52 (56,5%) constituíram um *cluster* predominante, identificadas como pertencendo à família Lisboa e 18 (19,6%) constituíram outro *cluster*, denominado de *cluster* B. Estes dois *clusters* já tinham sido identificados nos anos 90 do século passado e são muito semelhantes, apresentando uma homologia acima de 85%, o que faz supor a existência de um ancestral comum. Vinte e duas (23,9%), por apresentarem individualmente padrão genotípico único, foram designadas por “outras”. Ou seja, dos 92 doentes, 52 (56,5%) estavam infectados pela estirpe Lisboa (*cluster* predominante) e 40 (43,5%) estavam infectados por outras estirpes, dos quais 18 pelas estirpes do *cluster* B e 22 por estirpes de padrão único. De entre estas últimas foram identificadas duas estirpes Beijing. A distribuição anual destas estirpes encontra-se assinalada na tabela 36. Os polimorfismos eram muito variados, entre as estirpes isoladas, prevalecendo a família Lisboa, que juntamente com as estirpes do *cluster* B (adiante designadas por estirpes B) foram sempre detectadas neste estudo, de 1993 a 2012.

**Tabela 36 - Distribuição anual das estirpes de *M. tuberculosis* multirresistente e extensivamente resistente caracterizadas geneticamente**

Ano	Estirpe Lisboa (n=52)		Estirpe B (n=18)		Outras estirpes (n=22)		Total (n=92)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1993	5	9,6	0	0,0	1	4,5	6	6,5
1994	0	0,0	1	5,6	0	0,0	1	1,1
1995	11	21,2	6	33,3	4	18,2	21	22,8
1996	18	34,6	0	0,0	4	18,2	22	23,9
1997	1	1,9	0	0,0	0	0,0	1	1,1
2000	0	0,0	1	5,6	0	0,0	1	1,1
2001	4	7,7	1	5,6	0	0,0	5	5,4
2003	3	5,8	1	5,6	1	4,5	5	5,4
2004	5	9,6	2	11,1	3	13,6	10	10,9
2005	2	3,8	2	11,1	1	4,5	5	5,4
2006	0	0,0	0	0,0	1	4,5	1	1,1
2007	1	1,9	0	0,0	1	4,5	2	2,2
2009	0	0,0	0	0,0	1	4,5	1	1,1
2010	0	0,0	1	5,6	2	9,1	3	3,3
2011	1	1,9	1	5,6	3	13,6	5	5,4
2012	1	1,9	2	11,1	0	0,0	3	3,3
Total	52	56,5	18	19,6	22	23,9	92	100,0

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens; pode indicar doentes ou estirpes

### 5.2.7.2. Padrões de resistência

A tabela 37 mostra os padrões de resistência das estirpes estudadas. Nos doentes infectados pela estirpe Lisboa, os padrões mais frequentes foram o da resistência conjunta à INH, à RMP, ao EMB e à SM (32,7%) e o de resistência conjunta à INH, à RMP e à SM (7,7%).

Nos infectados pela estirpe B, os padrões mais frequentes de resistência aos antituberculosos foram o de resistência simultânea à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX e OFX (16,7%) e o de resistência à INH, RMP, EMB e SM (11,1%) ou à INH, RMP e SM (11,1%). Com outras estirpes, o padrão mais frequente foi o da resistência à INH, RMP e EMB (13,6%). Não foi encontrada qualquer correlação entre os padrões genéticos e os fenótipos de resistência aos antibacilares. O padrão de resistência diferiu, se bem que houvesse um padrão predominante de acordo com a estirpe.

Tabela 37 - Padrões de resistência aos antituberculosos de 1ª e de 2ª linhas das estirpes Lisboa, das estirpes B e de outras estirpes

Padrões de resistência	Estirpe Lisboa (n=52)		Estirpe B (n=18)		Outras estirpes (n=22)		Total (n=92)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
INH RMP	3	5,8	0	0,0	1	4,6	4	4,4
<b>INH RMP EMB</b>	2	3,9	0	0,0	<b>3</b>	<b>13,6</b>	5	5,4
INH RMP EMB ETO	2	3,9	0	0,0	0	0,0	2	2,2
INH RMP EMB PZA	2	3,9	0	0,0	0	0,0	2	2,2
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>17</b>	<b>32,7</b>	<b>2</b>	<b>11,1</b>	2	9,1	<b>21</b>	<b>22,8</b>
INH RMP EMB SM ETO KM CM AM CFX OFX	3	5,8	1	5,6	0	0,0	4	4,4
INH RMP EMB SM PZA	2	3,9	0	0,0	2	9,1	4	4,4
<b>INH RMP EMB SM PZA ETO KM CM AM CFX OFX</b>	1	1,9	<b>3</b>	<b>16,7</b>	1	4,6	5	5,4
INH RMP ETO	1	1,9	0	0,0	2	9,1	3	3,3
INH RMP PZA	1	1,9	1	5,6	1	4,6	3	3,3
INH RMP PZA ETO KM CM AM	0	0,0	1	5,6	1	4,6	2	2,2
<b>INH RMP SM</b>	<b>4</b>	<b>7,7</b>	<b>2</b>	<b>11,1</b>	2	9,1	<b>8</b>	<b>8,7</b>
Outros	14	26,9	8	44,4	7	31,8	29	31,5

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Abreviaturas: AM=amicacina, CFX=ciprofloxacina, CM=capreomicina, EMB=etambutol, ETO=etionamida, INH=isoniazida, KM=canamicina, OFX=ofloxacina, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina

### **5.2.7.3. Epidemiologia, clínica, diagnóstico e evolução de acordo com as características das estirpes**

Algumas das características epidemiológicas, clínicas, do diagnóstico e evolutivas, encontradas nos doentes, foram comparadas, consoante se tratasse de infectados pela estirpe Lisboa, pela estirpe B ou, ainda, por outras estirpes (tabela 38).

Entre os co-infectados por VIH verifica-se uma maior prevalência da estirpe Lisboa, relativamente às outras estirpes (90,4% vs 72,2% da estirpe B e 68,2% de outras estirpes), diferença que é, estatisticamente, significativa (p-valor = 0,032).

Não parece haver diferenças, estatisticamente, significativas, na prevalência de estirpes, entre doentes com história de TB prévia, incorrectamente tratada (48,1% da estirpe Lisboa, 27,8% da estirpe B e 50,0% de outras), ou entre doentes sem história de TB anterior (51,9% da estirpe Lisboa, 72,2% da estirpe B e 50,0% de outras). Qualquer que fosse o tipo de estirpe, a quase totalidade dos doentes teve TB com localização pulmonar e a maioria tinha TB MR.

Embora sem diferenças, estatisticamente, significativas, parece existir uma menor prevalência de primeiro exame directo da expectoração negativo, em doentes infectados pela estirpe Lisboa, do que em doentes infectados por outras estirpes (42,3% vs 55,6% com a estirpe B e 59,1% com outras estirpes) e um maior tempo mediano de doença não diagnosticada em doentes infectados pela estirpe Lisboa (77 dias vs 62 dias para os doentes infectados pela estirpe B e 64 dias para os doentes infectados por outras estirpes).



**Tabela 38 - Características epidemiológicas, clínicas, do diagnóstico e evolutivas dos doentes infectados pela estirpe Lisboa, pela estirpe B e por outras estirpes**

Características (n=92)	Estirpe Lisboa (n=52)	Estirpe B (n=18)	Outras estirpes (n=22)	P-valor
	n (%)	n (%)	n (%)	
<b>Epidemiológicas</b>				
Co-infectados por VIH	47 (90,4)	13 (72,2)	15 (68,2)	0,032
Imunocompetentes	5 (9,6)	5 (27,8)	7 (31,8)	-
Com TB anterior sensível	25 (48,1)	5 (27,8)	11 (50,0)	0,307
Sem TB anterior	27 (51,9)	13 (72,2)	11 (50,0)	-
<b>Clínicas</b>				
Localização pulmonar	51 (98,1)	18 (100,0)	22 (100,0)	1,000
Localização extra-pulmonar	1 (1,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
TB MR	35 (67,3)	10 (55,6)	18 (81,8)	0,198
TB ER	17 (32,7)	8 (44,4)	4 (18,2)	-
<b>De diagnóstico</b>				
1º exame directo da expectoração negativo	22 (42,3)	10 (55,6)	13 (59,1)	0,343
<b>Tempo de doença não diagnosticada</b>				
Média (SD)	97,3 (75,5)	72,3 (47,8)	78,3 (38,8)	0,372
Mediana (IIQ)	77 (51 - 116)	62 (37-88)	64 (49-108)	
<b>De evolução (n=83)</b>				
Curados	10 (21,7)	4 (25,0)	9 (42,9)	0,177
Não curados	36 (78,3)	12 (75,0)	12 (57,1)	-
Toxicidade medicamentosa	13 (25,0)	5 (27,8)	4 (18,2)	0,843
<b>Tempo mediano de sobrevivência</b>	7,1 meses	6,2 meses	51,1 meses	0,414
<b>Probabilidades de sobrevivência</b>				
6 meses	55,9%	53,3%	66,7%	
1 ano	46,7%	46,7%	66,7%	
2 anos	37,4%	46,7%	66,7%	

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Houve maior tendência (embora não significativa, do ponto de vista estatístico), para taxas menores de cura nos infectados pela estirpe Lisboa (21,7% vs 25,0% pela estirpe B vs 42,9% por outras estirpes). No entanto, estava, apenas, disponível informação relativa à cura para 83 dos 92 doentes. Não se verificaram diferenças, significativas, no número de casos de toxicidade medicamentosa, encontrados nos doentes infectados pelas diferentes estirpes.

Quanto ao tempo mediano de sobrevivência (tempo entre a data do diagnóstico e a data da morte) não parecem existir diferenças, com significado estatístico, qualquer que seja a estirpe ( $p \text{ Log-rank}=0,414$ ). O tempo mediano de sobrevivência, ou seja, o tempo em que apenas metade dos doentes da amostra sobreviveu, foi de 7,1 meses para os infectados pela estirpe Lisboa, de 6,2 meses para os infectados pela estirpe B e de 51,1 meses para os infectados por outras estirpes, isto é, aos sete meses, 50% dos doentes infectados com a estirpe Lisboa já tinha morrido e aos seis meses, de igual modo, 50% dos infectados pela estirpe B já tinha morrido, enquanto que para os infectados por outras estirpes, tal só aconteceu aos 51,1 meses.

Aos seis meses, a um ano e a dois anos a probabilidade de estar vivo para os infectados pela estirpe Lisboa foi respectivamente de 55,9%, de 46,7% e de 37,4%, para os doentes infectados pela estirpe B, respectivamente de 53,3%, de 46,7% e de 46,7% enquanto que para os infectados por outras estirpes, as probabilidades a seis meses, a um ano e a dois anos foram todas de 66,7%.

### 5.2.8. UMA EPIDEMIA NOSOCOMIAL EM 1995 E 1996

Nos anos de 1995 e de 1996 não estavam instaladas na Instituição, quaisquer medidas de prevenção da transmissão nosocomial de TB e ocorreria uma epidemia. Dos 99 doentes com TB MR ou ER internados nos anos de 1995 e de 1996 (88 co-infectados por VIH e 11 imunocompetentes), a quase totalidade tinha TB MR. Apenas um doente co-infectado por VIH, teve TB ER documentada (os testes de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha não eram feitos com regularidade). Treze doentes perderam-se no seguimento, sendo conhecida a evolução dos restantes 86 (80 co-infectados por VIH e seis imunocompetentes). Nesse biénio, a percentagem de doentes não curados foi muito superior para os co-infectados por VIH (90,0% vs 16,7%). Esta diferença é, estatisticamente, significativa (tabela 39).

Vinte e oito doentes tiveram TB prévia, sensível aos antibacilares, que fora incorrectamente tratada, enquanto a maioria (n=58) nunca tivera TB. Nos doentes co-infectados por VIH e com TB prévia sensível aos antituberculosos, mas incorrectamente tratada, a percentagem de curados foi de 7,4%. Nos doentes co-infectados por VIH e sem TB prévia, a percentagem de curados foi de 11,3%. Verifica-se maior percentagem de cura para os últimos, diferença que é, estatisticamente, significativa. No grupo dos imunocompetentes, com apenas seis casos (comprometendo, assim, a possibilidade de extrapolação dos resultados para a população), esta tendência inverte-se, verificando-se maior percentagem de cura nos doentes com TB anterior, sensível aos antituberculosos, mas incorrectamente tratada (100% vs 80,0%), embora sem significância estatística.

**Tabela 39 - Resultados da terapêutica antituberculosa em doentes com TB MR ou TB ER, com e sem TB anterior sensível, incorrectamente tratada, nos anos de 1995 e de 1996**

Doentes (n=86)	Co-infectados por VIH (n=80)	Imunocompetentes (n=6)	P-valor
	n (%)	n (%)	
Não curados (n=73)	72 (90,0)	1 (16,7)	<0,001
Curados (n=13)	8 (10,0)	5 (83,3)	-
<b>Com TB prévia (n=28):</b>			
Não curados	25 (92,6)	0 (0,0)	0,107
Curados	2 (7,4)	1 (100,0)	-
<b>Sem TB prévia (n=58):</b>			
Não curados	47 (88,7)	1 (20,0)	0,002
Curados	6 (11,3)	4 (80,0)	-

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Nestes dois anos, que foram os de maior incidência de TB MR, o padrão de resistências prevalente quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes foi o da resistência simultânea à INH, RMP, EMB e SM (tabela 40).

**Tabela 40 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e de 2ª linhas dos doentes com TB MR e com TB ER, nos anos de 1995 e de 1996**

Padrões de resistência	Co-infectados por VIH (n=88)		Imunocompetentes (n=11)		Total (n=99)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP	4	4,5	0	0,0	4	4,0
INH RMP EMB	2	2,3	0	0,0	2	2,0
INH RMP EMB PZA	2	2,3	1	9,1	3	3,0
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>44</b>	<b>50,0</b>	<b>4</b>	<b>36,4</b>	<b>48</b>	<b>48,5</b>
INH RMP EMB SM PZA	10	11,4	1	9,1	11	11,1
INH RMP PZA	7	8,0	1	9,1	8	8,1
INH RMP SM	14	15,9	3	27,3	17	17,2
INH RMP SM PZA	3	3,4	0	0,0	3	3,0
Outros	2 <sup>1</sup>	2,3	1	9,1	3	3,0

<sup>1</sup>Um único caso diagnosticado de TB ER nos anos de 1995 e 1996 (em coinfectedo por VIH).

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Abreviaturas: EMB=etambutol, INH=isoniazida, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina

Separando os padrões de resistência, conforme se tratasse de doentes com TB prévia sensível aos antituberculosos, incorrectamente tratada, ou de doentes sem história de TB prévia, o padrão de resistência conjunta à INH, RMP, EMB e SM continuou a ser o mais frequente, seguido pelo de resistência simultânea à INH, RMP e SM, independentemente dos grupos de doentes (tabela 41).

**Tabela 41 - Padrões de resistência aos antibacilares de 1ª e de 2ª linhas, nos doentes com TB MR e com TB ER e com ou sem história de TB anterior sensível aos antituberculosos, incorrectamente tratada, nos anos de 1995 e de 1996**

Padrões de resistência	Com TB anterior (n=32)		Sem TB anterior (n=67)		Total (n=99)	
	n	%	n	%	n	%
INH RMP	3	9,4	1	1,5	4	4,0
INH RMP EMB	1	3,1	1	1,5	2	2,0
INH RMP EMB PZA	2	6,3	1	1,5	3	3,0
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>14</b>	<b>43,8</b>	<b>34</b>	<b>50,7</b>	<b>48</b>	<b>48,5</b>
INH RMP EMB SM PZA	4	12,5	7	10,4	11	11,1
INH RMP PZA	4	12,5	4	6,0	8	8,1
INH RMP SM	4	12,5	13	19,4	17	17,2
INH RMP SM PZA	0	0,0	3	4,5	3	3,0
Outros	0	0,0	3	4,5	3	3,0

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Abreviaturas: EMB=etambutol, INH=isoniazida, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina

Das 43 estirpes isoladas e caracterizadas geneticamente, nos anos de 1995 e de 1996, (21 e 22, respectivamente), 29 pertenciam à família Lisboa (67,4%), seis ao *cluster* B (14,0%) e em oito (18,6%) o padrão era único (tabela 42).

**Tabela 42 - Comparação da estirpe Lisboa, estirpe B e outras estirpes, nos anos de 1995 a 1996**

Características da população (n=43)	Estirpes Lisboa (n=29)	Estirpes B (n=6)	Outras estirpes (n=8)	P-valor
	n (%)	n (%)	n (%)	
<b>Epidemiológicas</b>				
Co-infectados por VIH	29 (100,0)	6 (100,0)	7 (87,5)	0,326
Imunocompetentes	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	-
Com TB prévia sensível aos antibacilares	11 (37,9)	1 (16,7)	4 (50,0)	0,543
Sem TB anterior	18 (62,1)	5 (83,3)	4 (50,0)	-
<b>Clínicas</b>				
Localização pulmonar	28 (96,6)	6 (100,0)	8 (100,0)	1,000
Localização extrapulmonar	1 (3,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
TB MR	28 (96,6)	6 (100,0)	8 (100,0)	1,000
TB ER	1 (3,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	-
<b>De diagnóstico</b>				
1º exame directo da expectoração negativo	15 (51,7)	4 (66,7)	6 (75,0)	0,689
<b>Tempo de doença não diagnosticada</b>				
Média (SD)	89,8 (74,0)	55,7 (35,3)	78,63 (45,3)	0,372
Mediana (IIQ)	66 (50-105)	50 (23-77)	61,5 (41-117,5)	
<b>De evolução (n=38)</b>				
Curados	1 (4,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	0,573
Não curados	24 (96,0)	6 (100,0)	6 (85,7)	-
<b>Toxicidade medicamentosa</b>	6 (20,7)	1 (16,7)	0 (0,0)	0,478
<b>Tempo mediano de sobrevivência</b>	3,8 meses	2,6 meses	1,8 meses	0,758
<b>Probabilidade de sobrevivência aos 6 meses</b>	28,6%	20,0%	40,0%	

*n* - número de observações usado no cálculo das percentagens

Neste período de tempo não parece existir nenhuma particularidade que diferencie as estirpes, uma vez que todos os testes efectuados não revelaram a existência de diferenças, estatisticamente, significativas. O tempo mediano de doença não diagnosticada parece ser a característica que mais as distingue (66 dias para as estirpes Lisboa vs 50 para as estirpes B e 61,5 dias para outras estirpes).

Relativamente à sobrevivência, também não se encontraram diferenças. O tempo mediano de sobrevivência (tempo em que 50% dos doentes da amostra não sobreviveu) nestes anos foi de 3,8 meses para as estirpes Lisboa, de 2,6 meses para as estirpes B e de 1,8 meses para as outras estirpes. A probabilidade de sobreviver a seis meses foi de 28,6% para as estirpes Lisboa, de 20,0% para as estirpes B e de 40,0% para as outras. As curvas de sobrevivência não foram, do ponto de vista estatístico,

consideradas diferentes (p Log-rank = 0,758), no entanto, estes resultados devem ser interpretados com cuidado, devido à dimensão reduzida da amostra.

### 5.2.8.1. Padrões de resistência da estirpe Lisboa, da estirpe B e de outras em 1995 e 1996

Nos anos de 1995 e 1996, os padrões de resistência mais frequentes, nos doentes infectados pela estirpe Lisboa, foram os de resistência conjunta à INH, RMP, EMB e SM (55,2%) e à INH, RMP e SM (13,8%). Nos doentes infectados pela estirpe B, foram os de resistência conjunta à INH, RMP, EMB e SM (33,3%) e à INH, RMP e SM (33,3%). Nos doentes infectados por outras estirpes foram os de resistência simultânea à INH, RMP e EMB (25%) e à INH, RMP, EMB, SM e PZA (25%) conforme se assinala na tabela 43. Não foi encontrada qualquer correlação entre os padrões genéticos e os fenótipos de resistência aos antibacilares. O padrão de resistência diferiu, se bem que houvesse um padrão predominante de acordo com a estirpe.

**Tabela 43 - Padrões de resistência aos antibacilares da estirpe Lisboa, da estirpe B e de outras estirpes, nos anos de 1995 e 1996**

Padrões de resistência	Estirpe Lisboa (n=29)		Estirpe B (n=6)		Outras estirpes (n=8)		Total (n=43)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
INH RMP	3	10,3	0	0,0	0	0,0	3	7,0
INH RMP EMB	0	0,0	0	0,0	2	25,0	2	4,7
INH RMP EMB PZA	2	6,9	0	0,0	0	0,0	2	4,7
<b>INH RMP EMB SM</b>	<b>16</b>	<b>55,2</b>	<b>2</b>	<b>33,3</b>	1	12,5	<b>19</b>	<b>44,2</b>
INH RMP EMB SM PZA	1	3,4	1	16,7	2	25,0	4	9,3
INH RMP PZA	1	3,4	0	0,0	1	12,5	2	4,7
<b>INH RMP SM</b>	<b>4</b>	<b>13,8</b>	<b>2</b>	<b>33,3</b>	1	12,5	<b>7</b>	<b>16,3</b>
INH RMP SM PZA	1	3,4	0	0,0	0	0,0	1	2,3
Outros	1	3,4	1	16,7	1	0,0	3	7,0

*n - número de observações usado no cálculo das percentagens*

Abreviaturas: EMB=etambutol, INH=isoniazida, PZA=pirazinamida, RMP=rifampicina, SM=estreptomicina

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. EPIDEMIOLOGIA

Os 311 doentes com TB MR ou TB ER deste estudo (249 com TB MR e 62 com TB ER) representam uma prevalência global de 12,7%, num total de 2.447 casos de TB diagnosticados durante 20 anos (entre 1 de Janeiro de 1993 e 31 de Dezembro de 2012) num Hospital Central de Lisboa e, são, maioritariamente, residentes neste distrito (89,4%).

Esta prevalência diz respeito, a uma incidência média anual de 11,2% de novos casos de TB MR e TB ER, que variou entre 3,3% em 1994 (o ano de menor incidência) e 24,7% e 27,8%, respectivamente, em 1995 e 1996 (anos de maior incidência e de ocorrência de uma epidemia nosocomial em internamento),<sup>102,118,127,129,182</sup> para, de seguida, diminuir progressivamente e estabilizar, a partir de 2007, em valores próximos de 3%. A incidência conjunta de TB MR e de TB ER esconde, por sua vez, uma incidência média anual de casos de TB MR de 12,5% (com valor máximo em 1996, de 27,8%, ano em que não se registou nenhum caso de TB ER) e uma incidência média anual de TB ER de 3,1%. A incidência anual de TB MR foi sempre superior à incidência média anual referida em Portugal durante o mesmo período, que atingiu um valor máximo de 3,1% em 2000 e um valor mínimo de 0,6% em 2012.<sup>14-16,99-101,183,184</sup> A incidência anual de TB MR que nos é dada pelas autoridades de saúde portuguesas, engloba, por norma, os casos de TB ER, o que realça, ainda mais, a importância dos números do nosso estudo, em que separámos as incidências das duas formas de TB. Quando esse indicador esteve disponível, verifica-se que a incidência anual de TB ER esteve, também ela, acima dos valores médios referidos para o País (0,6% de 2003 a 2007),<sup>101</sup> tendo atingido o valor máximo de 5,7% nos anos de 2003 e 2004. Apesar de se poder dizer, que no nosso País, a evolução da TB MR e da TB ER, nos últimos 18 anos, tem sido, globalmente, para a estabilização,<sup>15,16,101,183</sup> estes números confirmam uma incidência elevada em Portugal e na região de Lisboa, em particular onde, em 2012, se concentravam 62,5% dos casos de TB MR em Portugal<sup>183</sup> e contrariam a impressão das autoridades de saúde de que a incidência de TB MR parece vir a diminuir.<sup>14</sup> A região metropolitana de Lisboa, de elevada concentração populacional, é apontada como

uma das de maior prevalência de TB no País,<sup>15,16,183,184</sup> a de maior procura e concentração de imigrantes, a de maior concentração de toxicodependentes e a de maior concentração de infectados por VIH.<sup>185</sup> Por exemplo, em 2004, 29% de todos os novos casos de TB em Portugal estavam concentrados no distrito de Lisboa, dos quais 75% associados a estes três grupos de risco.<sup>186</sup> Em particular, os co-infectados por VIH e os toxicodependentes têm pior adesão ao tratamento e, em consequência, maior probabilidade de desenvolver TB resistente e de a transmitir entre si e a outros doentes.<sup>15,34,187,188</sup> A elevada incidência de casos de TB MR e de TB ER na região de Lisboa, que aqui é referida, resulta, assim, de múltiplos factores, de entre os quais os populacionais agora mencionados, mas, também, da disponibilização nos últimos anos, de mais e melhores meios laboratoriais de diagnóstico nesta zona do País.

Os resultados mostram, que a maioria dos casos de TB MR ou de TB ER ocorre em portugueses (80,7% dos casos) e que apenas 19,1% são cidadãos estrangeiros, sobretudo provenientes de África (51 doentes), mas, também, da Europa (seis doentes), da América do Sul e Central (dois doentes) e da Oceânia (um doente). Esta proporção de imigrantes, entre doentes com TB MR ou TB ER, é superior à que se descreve entre doentes com TB sensível aos antibacilares, na globalidade do País (16,6% em 2011, 16,0% em 2012, 17,0% em 2013),<sup>16,183,184</sup> mas inferior à proporção que se descrevia em 2012, em Portugal, para os doentes imigrantes com TB MR e que era de 31,6%.<sup>15</sup> No conjunto, estes indicadores sugerem que a TB MR ou a TB ER, nesta população, possa resultar mais vezes de infecção primária do que de resistência adquirida e, também, que há a possibilidade de existirem outras regiões no País com maior concentração de imigrantes afectados por esta forma de TB, do que Lisboa. A percentagem de doentes imigrantes com TB MR e TB ER é maior entre imunocompetentes do que entre co-infectados por VIH, com diferenças que são, estatisticamente, significativas. De salientar, ainda, que, antecedendo o diagnóstico de TB MR ou de TB ER, quatro doentes tinham residência fixa em países africanos e 28, embora vivendo no nosso País, havia mais de 20 anos, tinham ligação temporária (viagem ou estadia), nos últimos 10 anos (depois de 2000), a áreas de prevalência elevada de TB (sobretudo África), não sendo possível identificar, durante essas permanências, eventuais contactos próximos com outros casos conhecidos de TB. Este número de imigrantes e estas relações epidemiológicas de alguns doentes com zonas



geográficas de prevalência elevada de TB, parecendo, pela percentagem, serem pouco relevantes e pouco influentes na epidemia registada na área de Lisboa, não permitem, contudo, excluir com segurança, uma possível importação de estirpes de TB MR provenientes desses países e, em consequência, a sua transmissão na região de Lisboa, o que só a genotipagem das estirpes poderá esclarecer. No Mundo, por incapacidade no diagnóstico e na notificação, a informação quanto à prevalência de estirpes de TB MR em África, na América do Sul e Central ou na Oceânia, antes de 1993, ano do início do nosso estudo, é escassa e, numa revisão da literatura de 1985 a 1994, as maiores taxas de TB MR encontravam-se no Nepal, na Índia, em Nova Iorque, na Bolívia e na Coreia,<sup>189</sup> mas, desde 1992, a TB MR já era descrita em vários países europeus, nomeadamente em Espanha,<sup>67,72</sup> França<sup>70,190</sup> e na antiga União Soviética,<sup>191-193</sup> não se podendo, por isso, excluir, também, que imigrados com residência permanente em Portugal, as pudessem ter introduzido em Lisboa, em anos anteriores. De qualquer forma, é de referir que, entre 1992 e 1994, foi identificada, a partir de amostras de 124 doentes de dois hospitais de Lisboa, co-infectados por VIH e imunocompetentes, uma estirpe de *M. tuberculosis* multirresistente, geneticamente distinta, sem nenhum perfil idêntico, quando comparada com uma base de dados holandesa, de 5.000 perfis, oriundos de diversos países europeus, asiáticos e africanos, que se pensava poder ser um genotipo único português e que foi designada por estirpe Lisboa.<sup>171</sup> Embora em pequena percentagem (4%), admitia-se que esta estirpe fosse a principal responsável pela transmissão de TB MR entre a população da região de Lisboa. Importa, também, sublinhar que, no nosso estudo, os doentes que são mencionados como tendo ligações epidemiológicas, por estadia temporária, a outros países, só as tiveram depois do ano de 2000.

Os resultados indicam, que a TB MR e a TB ER são mais frequentes no sexo masculino (85,2% dos casos), ao contrário do que acontece na TB sensível em Portugal em que a distribuição por sexos (englobando co-infectados por VIH e imunocompetentes) se tem mantido numa proporção de 2/1 (homens/mulheres),<sup>15,16,184</sup> o que levanta a suspeita de poder haver pior adesão dos homens ao tratamento e, são também, mais frequentes na raça caucasiana (86,2% dos casos), em relação à qual, os dados disponíveis da DGS são omissos sobre a prevalência na TB sensível.<sup>15,16,184</sup> Os resultados indicam, de igual modo, que a TB MR e a TB ER afectam maioritariamente,

grupos etários mais jovens (média de 37 anos), já que a média de idades para a TB sensível no País (sem diferenciação entre co-infectados e imunocompetentes) se tem situado entre os 45 e os 54 anos <sup>15,16,184</sup> e, sabe-se, que quanto mais baixo fôr o grupo etário, independentemente da existência ou não de co-infecção por VIH, maior é a possibilidade de qualquer forma de TB ser consequência de infecção primária, isto é, infecção de novo, seguida de progressão para doença activa e, menor é a probabilidade de ter resultado de reactivação. No momento do diagnóstico da TB MR ou da TB ER apurou-se uma média de 35 anos de idade, em doentes co-infectados por VIH e, de 45 anos em imunocompetentes, havendo nos primeiros, tal como na TB sensível, um risco acrescido de aquisição, de progressão e de reactivação da infecção tuberculosa.<sup>185</sup>

A TB MR ou TB ER é também mais frequente entre os que têm hábitos tabágicos e entre os que estão desempregados, factores de risco que são bem conhecidos, como acompanhantes habituais da TB. Por outro lado, verifica-se, que a maioria dos doentes é proveniente de determinadas áreas e de algumas freguesias de Lisboa (zona norte e oriental da cidade e zona envolvente do antigo Casal Ventoso), que podem ser conotadas com factores (económicos, sociais, culturais, de estilos de vida e de hábitos, de entre outros) que estiveram ligados a alta prevalência de condições sociais degradantes e de toxicodependência. Neste estudo, por exemplo, 13 doentes residentes na área metropolitana de Lisboa eram sem abrigo. Estes factores epidemiológicos, que predispõem à TB, não podem ser desvalorizados e têm um contributo importante para as dimensões da epidemia por TB MR e TB ER nesta área. Também, o facto de 66,3% dos co-infectados por VIH e de 65,1% dos imunocompetentes estarem co-infectados por VHC, de 12,6% dos co-infectados por VIH e de 4,4% dos imunocompetentes estarem co-infectados por VHB e de 11,4% dos co-infectados por VIH e de 6,8% dos imunocompetentes terem marcadores serológicos de sífilis são indicadores indirectos das condições sociais e comportamentais dos doentes em estudo. Assim, embora o maior risco de um infectado por VIH desenvolver TB se relacione com a sua imunodeficiência e, de um imunocompetente a desenvolver se relacione com os outros factores, os dados demográficos encontrados são potenciadores de maior risco de TB, de TB MR e de TB ER. Por outro lado, sabe-se que a infecção por VIH, a toxicodependência, a diabetes *mellitus*, o viver sem abrigo, a

pobreza, a terapêutica imunossupressora ou por exemplo as neoplasias, são factores de risco importantes para a doença tuberculosa,<sup>184,194-200</sup> mas a toxicodependência só esteve presente em 17,6% dos imunocompetentes e os restantes factores de risco apontados, só foram identificados em 25,7%. Também, no grupo dos doentes imunocompetentes, 74,3% (n=55) desconheciam antecedentes de TB ou já a tinham curado há mais de quatro anos. No conjunto, estes indicadores apontam para que a TB MR e a TB ER possam aparecer no distrito de Lisboa (89,4% dos doentes deste estudo) e na área metropolitana em particular (onde residem cerca de 59,2% deles), com carácter endémico, sem estarem restringidas a factores de risco e ocorrendo sobretudo em grupos etários mais jovens, do que na TB sensível,<sup>14-16,184</sup> o que faz supor um elevado potencial de transmissão na comunidade.

Nesta amostra de 311 doentes, com TB MR e TB ER, a prevalência de co-infectados por VIH (76,2%; n=237, dos quais 197 com TB MR e 40 com TB ER), é muito superior à dos imunocompetentes (23,8%; n=74, dos quais 52 com TB MR e 22 com TB ER). Esta prevalência é, também, muito superior à prevalência que se aponta a nível nacional para a co-infecção por VIH entre doentes com TB sensível, que era, por exemplo, de 12% em 2010, de 14,5% em 2011 e de 19,8% em 2012,<sup>15,16,184</sup> o que se pode relacionar, como se disse anteriormente, com a maior concentração de TB sensível e de infectados por VIH no distrito de Lisboa<sup>183-186,201-203</sup> e, que sugere, para este grupo de doentes, um papel-chave na génese da TB MR e na sua transmissão. No estudo, a incidência média anual de TB MR ou TB ER em co-infectados por VIH foi de 13,2% e em imunocompetentes foi de 8,7%, todavia, a incidência anual, em co-infectados, que foi crescente até 1995 e 1996 (os anos de maior incidência, quer em co-infectados por VIH quer em imunocompetentes, em resultado de uma epidemia nosocomial),<sup>102,129,182</sup> diminuiu desde então, observando-se mesmo, entre 2006 e 2009, a ocorrência de um número de casos igual ou maior em imunocompetentes. A maior incidência e prevalência de TB MR e de TB ER em co-infectados por VIH, confere-lhes portanto, um papel importante nesta epidemia, em particular na primeira década, e está de acordo com as suspeitas levantadas em algumas publicações, que admitem que estes doentes têm maior risco de TB MR e de TB ER, por apresentarem maiores cargas bacilares.<sup>104,105</sup> A relação da infecção por VIH com a resistência não é clara e, alguns estudos, são inconclusivos,<sup>38</sup> mas é de assinalar que a imunodeficiência, induzida por VIH, permite

maiores populações bacilares e, em consequência, maior probabilidade de resistência adquirida por má adesão ao tratamento, a que se junta maior risco de reactivação e de reinfeção tuberculosa<sup>34,125,187,188</sup> e, por isso, maior probabilidade de transmissão e de resistência primária em outros. De referir, igualmente, que a co-infecção por VIH poderá estar associada a má absorção da medicação antituberculosa<sup>83,204-206</sup> e a níveis significativamente reduzidos de rifampicina, o que favorece a selecção de resistências.<sup>110,111,207-209</sup> Tendo em conta a evolução encontrada das incidências e mesmo que haja a tendência, nos últimos anos, para uma menor realização do teste para anticorpos anti-VIH em doentes com TB,<sup>183</sup> é possível, que a diminuição recente do número de casos de TB MR e de TB ER em co-infectados por VIH, esteja relacionada, de entre outros factores, com maior sensibilização para a necessidade de aderirem à terapêutica da TB sensível, com a optimização e o início mais precoce da TARV,<sup>210-212</sup> ou mesmo, com uma descida real da prevalência da infecção por VIH na região de Lisboa.<sup>213</sup> Estas serão, entre outras, algumas das razões, pelas quais se assistiu, nos últimos anos, a um número de casos de TB MR e de TB ER entre indivíduos imunocompetentes, que é pelo menos idêntico, ao que se verifica entre co-infectados por VIH (16 e 17 casos, respectivamente).

Entre os doentes co-infectados por VIH e TB MR ou TB ER, 225 tinham infecção por VIH-1, nove tinham infecção por VIH-2 (oriundos de Guiné e Cabo Verde) e três tinham infecção por VIH-D. Não se detectam nos casos de TB MR ou de TB ER, quaisquer características clínicas, laboratoriais, radiológicas ou evolutivas, que ajudem a distinguir o tipo de vírus envolvido, nem são diferentes as prevalências dos vírus implicados, de forma semelhante, aliás, ao que acontece na TB sensível.<sup>214</sup> No entanto, de referir que no estudo, apenas 9,6% (n=30) dos doentes, eram provenientes da Guiné e de Cabo Verde, na região geográfica da África Ocidental onde é maior a prevalência da infecção por VIH-2.<sup>215,216</sup>

A TB MR e a TB ER são, de acordo com os resultados, não só mais frequentes em co-infectados por VIH do que em imunocompetentes, mas, também, e de forma estatisticamente, significativa, mais frequentes em toxicodependentes co-infectados por VIH, do que em toxicodependentes imunocompetentes (68,3% vs 17,6%). Por outro lado, são mais frequentes em heterossexuais imunocompetentes do que em heterossexuais co-infectados por VIH (82,4% vs 29,1%). Vários artigos científicos

referem, que a toxicodependência endovenosa, independentemente da infecção por VIH, é um factor de risco para a infecção tuberculosa e para a sua progressão<sup>15,16,184,187,188,217-220</sup> e várias publicações apontam para a maior frequência da TB MR em toxicodependentes, por constituírem o grupo de doentes com pior adesão ao tratamento.<sup>203,221</sup> Os toxicodependentes constituíram o principal grupo social de infectados por VIH, durante os primeiros anos da epidemia causada por este vírus,<sup>117,185,203,221-228</sup> pelo que a co-infecção TB-VIH, em associação com a toxicodependência, foram determinantes no início da TB MR e da TB ER em Lisboa. Cerca de 50% dos doentes (48,5% dos co-infectados por VIH e 40,5% dos imunocompetentes) com TB MR ou TB ER, do estudo, já tinha recorrido previamente ao médico, não sendo admitido o diagnóstico de TB e os outros 50% nunca procuraram cuidados de saúde, ou fizeram-no tardiamente, apesar de queixas com longa duração (média de 45,1 dias em co-infectados e de 69,8 dias em imunocompetentes). Assim, estes dados sugerem, em proporções equivalentes, negligência por parte dos médicos e do lado dos doentes, de que resultam tempos médios de doença em ambulatório que são longos, e que contribuem, para tempos médios de doença não diagnosticada igualmente prolongados. O desconhecimento da apresentação clínica da TB e erros de diagnóstico (também referidos em outros Centros),<sup>229,230</sup> eventuais limitações nos meios complementares de diagnóstico disponíveis, insuficiente educação para a saúde e atrasos no acesso aos cuidados de saúde predispõem, por isso, ao reconhecimento tardio da doença e facilitam períodos de maior transmissibilidade na comunidade. Nos co-infectados por VIH, o valor médio de linfócitos TCD4<sup>+</sup> no momento do diagnóstico foi de 82 células/μL (valor mediano de 48,5 células/μL), um limiar muito abaixo daquele que se descreve na TB sensível aos antituberculosos, o que indica, que neste grupo de doentes, a imunodepressão muito avançada facilitou quer a primoinfecção, quer a reactivação da TB, conforme, aliás, está largamente documentado.<sup>34,125,138,185,231,232</sup> No co-infectado por VIH, porque *M. tuberculosis* é um microrganismo relativamente virulento, a reactivação da infecção tuberculosa latente, no decurso da imunodepressão induzida pelo vírus, tende a ocorrer com níveis de linfócitos TCD4<sup>+</sup> mais preservados, muitas vezes, acima de 300 células/μL e antes de outras infecções oportunistas.<sup>233,234</sup> Quando a TB, pelo contrário, se segue a outras infecções oportunistas e com linfócitos TCD4<sup>+</sup> muito diminuídos, deve ser suspeitada a

exposição e a infecção recentes. Neste estudo, apenas em 36,3% dos co-infectados por VIH a TB MR ou TB ER foi a primeira infecção oportunista. A maioria desenvolveu TB MR em fase avançada de doença, com grave imunodepressão e, após a identificação de outras infecções oportunistas, fazendo admitir que uma proporção importante dos casos corresponderam a TB primária, particularmente, se não havia história de TB anterior. Esta observação revela, por um lado, que a negligência e o atraso no acesso aos cuidados médicos, por este grupo de doentes, tiveram responsabilidades na transmissão activa na comunidade e, por outro, que o diagnóstico tardio nos co-infectados, já em fase avançada de doença, poderá ter implicações negativas na sua evolução e no seu prognóstico, comparativamente aos imunocompetentes.

Em 122 doentes (103 co-infectados e 19 imunocompetentes), com TB MR ou TB ER, constatou-se história anterior de TB sensível aos antibacilares (documentada por teste de sensibilidade aos antituberculosos de 1ª linha), tendo sido o tratamento inadequado, por tomas irregulares ou por ter sido interrompido, fazendo supor casos de resistência adquirida (MR secundária), enquanto 35 doentes (21 co-infectados e 14 imunocompetentes) tinham, de igual modo, história de TB anterior sensível aos antibacilares (também documentada por teste de sensibilidade aos antituberculosos de 1ª linha), curada havia mais de quatro anos (média de 12 anos), fazendo admitir casos de reinfecção por uma estirpe de *M. tuberculosis* multirresistente e, em consequência de resistência primária. Por outro lado, 154 doentes (113 co-infectados e 41 imunocompetentes) não tinham história conhecida de TB anterior ao diagnóstico de TB MR, admitindo-se, de igual modo, que se tratava de casos de resistência primária. Assim, na globalidade dos doentes, foi maior a proporção de doentes com MR primária (189 doentes, dos quais 35 por reinfecção), do que com MR secundária, consequente a má adesão ao tratamento (n=122), o que é um indicador importante de endemicidade e de transmissão de TB na comunidade. Os estudos têm, consistentemente, identificado o tratamento prévio da TB, como o factor de risco mais forte para a TB resistente,<sup>185,195-198,235-238</sup> mas constata-se que, em cerca de 60,7% dos casos, a TB MR e a TB ER na região de Lisboa não estão relacionadas com tratamentos anteriores, mas sim, tudo o indica, com a infecção *de novo* e com a reinfecção por estirpes multirresistentes, o que só a genotipagem pode provar. Por exemplo, neste estudo, a um doente co-infectado por VIH-1, foi-lhe diagnosticada, em 1995, TB

pulmonar sensível a todos os antituberculosos de 1ª linha (INH, RMP, EMB e PZA) e, em resultado de má adesão ao tratamento, TB MR em 1996 (padrão de resistência à INH, RMP, EMB e PZA), tendo sido curado. Em 2002, neste mesmo doente, é diagnosticada, *de novo*, TB ganglionar sensível aos quatro antibacilares de 1ª linha (INH, RMP, EMB e PZA), que foi, de igual modo, curada, o que prova a existência de infecção por pelo menos duas estirpes diferentes, a última das quais, sensível (*caso não publicado*). Neste doente em que foram identificadas estirpes de *M. tuberculosis*, sucessivamente, sensível-multirresistente-sensível, e de que não se dispõe de nenhuma genotipagem, é paradigmático de reinfecção, de circulação de estirpes e de transmissão na comunidade. Embora os padrões de resistência encontrados nos doentes, possam ajudar, como neste caso, a distinguir a MR primária da MR secundária, apenas a genotipagem, acompanhada de adequada investigação epidemiológica, o pode comprovar. A identificação de duas estirpes geneticamente distintas no mesmo indivíduo, em simultâneo ou não, permite afirmar a co-infecção ou a reinfecção, enquanto a sua identificação num segundo doente, comprova a transmissão.<sup>18,19,116,239</sup> De qualquer forma, tendo em conta a idade média dos doentes desta amostra, não é plausível, que tivesse ocorrido um número tão elevado de casos de reactivação de TB MR nesta comunidade, particularmente entre indivíduos imunocompetentes, ou mesmo que um agravamento da imunodepressão (no caso da infecção por VIH), possa favorecer essa reactivação, como não parece possível que uma qualquer estirpe sensível de *M. tuberculosis*, que tenha sido eliminada (num doente tratado e curado) havia mais de quatro anos e não submetida a qualquer pressão medicamentosa pudesse reactivar passado esse tempo como uma estirpe de TB MR ou de TB ER. Em ambas as circunstâncias, as estirpes de *M. tuberculosis* multirresistentes aqui encontradas, parecem resultar essencialmente de infecção ou de reinfecção recentes. Por outro lado, deverá acrescentar-se, que o desenvolvimento de TB MR, em doentes que tiveram má adesão ao tratamento de TB prévia da responsabilidade de uma estirpe de *M. tuberculosis* sensível, pode não ter ocorrido, exclusivamente, em consequência de resistência adquirida, mas ter resultado em alguns casos, de reinfecção (exógena) por uma estirpe que fosse resistente. A TB activa prévia está associada, a um risco aumentado de segundo episódio de TB activa

causado por uma estirpe diferente quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes.<sup>46,240-243</sup>

Com diferenças, estatisticamente significativas, foi mais frequente a história prévia de TB sensível aos antibacilares, incorrectamente tratada e favorecendo a aquisição gradual de resistências (MR secundária), em co-infectados por VIH (n=103), do que em imunocompetentes (n=19), o que poderá significar, que aquele grupo (de co-infectados), em particular nos primeiros anos deste estudo, com um número de casos de TB MR desproporcionadamente maior, do que o dos doentes imunocompetentes, desempenhou um papel importante, como ponto de partida para a disseminação da infecção em Lisboa e para o início da epidemia. Nos restantes 134 co-infectados por VIH, sem história de TB, anterior ao diagnóstico de TB MR ou com antecedentes de TB anterior sensível aos antibacilares, mas que fora curada havia mais de quatro anos, faz admitir que se tratassem de casos de TB MR primária, resultantes de transmissão na comunidade. A este propósito, refira-se que, até metade da década de 90, não havia vigilância de TB MR em Portugal. As primeiras referências começam a surgir a partir de 1994 e, todas elas, dão conta,<sup>102,118,203,217-223,244</sup> da maior prevalência de TB MR entre os doentes previamente tratados de TB e em co-infectados por VIH e toxicodependentes. Por exemplo, num estudo de 1995 a 1998, com 1.105 amostras provenientes de vários centros no País,<sup>203</sup> detectou-se TB MR primária e adquirida, respectivamente, de 1,8% e 20,9%. Nesse estudo, Lisboa era o distrito mais afectado, com 56,3% dos casos, dos quais, 51,9% em co-infectados por VIH e em que a taxa elevada de resistência aparecia associada, essencialmente, a tratamentos inadequados no passado, à toxicodependência e à infecção por VIH.<sup>203</sup> Também, nesses anos, são vários os trabalhos que documentam a transmissão de TB MR de co-infectados por VIH a outros co-infectados por VIH e a imunocompetentes quer na perspectiva de transmissão nosocomial, quer na comunidade,<sup>122,171,227,245</sup> o que comprovámos, com genotipagem de estirpes, em 1995 e 1996.<sup>102,129</sup>

Entre os imunocompetentes, em que a maior percentagem de casos de TB sensível, ocorre, em regra, por reactivação,<sup>246</sup> a maioria (55 doentes) referiu ser este o primeiro episódio de TB, ou tivera TB sensível tratada e curada havia mais de quatro anos, apontando, de igual modo, como mais provável, a TB MR primária. O facto de não terem experiência terapêutica prévia com antituberculosos e de ser maior a



prevalência de TB ER neste grupo de doentes, do que em co-infectados por VIH (diferença, estatisticamente, significativa), reforça, de alguma forma, esta possibilidade. Portanto, na globalidade do estudo, de 1993 a 2012, a proporção de casos de TB MR primária foi maior do que a de casos de TB MR secundária quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes, sugerindo que a epidemia de TB MR e TB ER de Lisboa, durante estes anos, resulta, principalmente, de infecções ou reinfecções exógenas recentes e, em consequência, de transmissão activa na comunidade, do que de reactivação endógena. De assinalar, contudo, que a proporção de casos de TB MR adquirida foi maior antes de 2000 e que a proporção de casos de TB MR primária foi maior depois dessa data, ou seja, nos últimos anos, têm diminuído os casos de TB MR adquirida e aumentado, proporcionalmente, os casos de TB MR primária, levantando a suspeita de que a transmissão de *M. tuberculosis* multirresistente na comunidade está em crescendo. Já no final dos anos 90 e no início deste século, as autoridades de saúde têm vindo a alertar para essa subida da TB MR primária em Portugal, com particular expressão em Lisboa e para valores que estavam acima da média europeia.<sup>247-249</sup> De 2000 a 2001, num estudo realizado em 4.170 doentes,<sup>248</sup> a TB MR primária foi encontrada em 2,8% dos doentes e, num outro estudo entre 2000 e 2003,<sup>249</sup> a análise de 4.700 isolados de *M. tuberculosis* revelava taxas de MR primária de 2,3%, valores estes que em qualquer dos casos, já estavam acima dos observados, à data, na Europa Central e Ocidental e que eram inferiores a 1%. Também, o facto de nos primeiros anos deste estudo ter sido maior a proporção de co-infectados com TB MR adquirida, enquanto nos últimos anos, ter sido progressivamente maior a proporção de doentes imunocompetentes com TB MR primária, é indicador de que essa transmissão está generalizada entre a população.

## 6.2. CLÍNICA E DIAGNÓSTICO

Tal como acontece na TB sensível aos antibacilares,<sup>15,16,184</sup> verificou-se que a TB com localização pulmonar (93,9% dos nossos doentes) é a forma mais frequente de apresentação da TB MR e da TB ER quer em co-infectados, quer em imunocompetentes e que o envolvimento, em simultâneo, pulmonar e extra-pulmonar, é mais frequente em co-infectados por VIH (44,7% vs 21,6% em

imunocompetentes).<sup>24,233,234</sup> A bacteriemia a *M. tuberculosis* é descrita em 20 a 40% dos co-infectados por VIH<sup>24,25</sup> e a imunodepressão avançada, destes doentes, favorece a disseminação da infecção, com o bacilo a ser identificado em vários locais, muitas vezes em simultâneo, podendo a doença resultar quer de infecção primária, quer de reactivação. Na TB pulmonar com envolvimento extrapulmonar simultâneo de um ou mais órgãos, a forma miliar é a mais frequente para ambos os grupos, seguida pela ganglionar e pela meníngea nos co-infectados por VIH e pela pleural nos imunocompetentes. Ao mesmo tempo, com diferenças estatísticas, de igual modo significativas, nos imunocompetentes, em comparação com os co-infectados, há maior proporção de casos de TB pulmonar sem envolvimento extrapulmonar (67,6% vs 50,6%) e de casos, apenas de TB extrapulmonar (10,8% vs 4,6%). Em doentes unicamente com TB extrapulmonar, a localização renal é a apresentação mais frequente quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes. Assinala-se, no conjunto, a pouca frequência de TB MR pleural em co-infectados por VIH, em comparação ao que se descreve na TB extrapulmonar sensível aos antibacilares,<sup>119,250-252</sup> e, a ausência de TB MR pericárdica e peritoneal em imunocompetentes, dado que são descritas neste grupo de doentes, em 3,5% das apresentações de TB extrapulmonar sensível aos antibacilares.<sup>253-256</sup>

A TB extrapulmonar, sem envolvimento pulmonar concomitante, que resulta mais vezes da reactivação de focos de TB primária,<sup>246</sup> ocorreu em apenas 11 (4,6%) dos co-infectados por VIH e em oito (10,8%) dos imunocompetentes. Não seria expectável, que fosse maior a proporção destes casos em imunocompetentes, porque estes terão, em princípio, defesas imunitárias e, também, porque se devidas a reactivação, então os oito doentes afectados estarão entre os 19 que tiveram história de TB sensível anterior, com tratamento inadequado e que terá disseminado como TB MR. Menos provável, parece ser, a hipótese de primoinfecção, seguida de disseminação extrapulmonar muito rápida, na ausência de manifestações pulmonares e, uma vez mais, no contexto de imunidade preservada. Qualquer que tenha sido o mecanismo responsável, e embora o tamanho da amostra seja pequeno, a maior proporção de casos de TB extrapulmonar verificada entre os doentes imunocompetentes, pode significar maior virulência das estirpes multirresistentes e indicar que esta forma de apresentação de TB MR e TB ER é mais característica deste grupo epidemiológico. Por

outro lado ainda, na presença de TB exclusivamente extrapulmonar, estão diminuídas, teoricamente, as probabilidades de transmissão da doença, pelo que os imunocompetentes terão tido, proporcionalmente, menor importância na disseminação da TB MR, do que os doentes co-infectados por VIH.

Quanto aos sintomas e sinais clínicos, encontraram-se diferenças, estatisticamente, significativas. Verificou-se que a febre elevada e “sem horário” e a diarreia são mais frequentes em co-infectados por VIH com TB MR e TB ER, bem como a presença de adenomegalias, de hepatomegalia e de esplenomegalia, enquanto a febre com padrão vespertino, as hemoptises e a sudorese nocturna, são mais frequentes em imunocompetentes com TB MR e TB ER. Embora sendo difícil de determinar, qual a influência que o próprio VIH pode ter em algumas das manifestações clínicas, os sintomas e sinais referidos mais vezes no primeiro grupo, estão de acordo, com a maior prevalência de doença disseminada e com a baixa média de linfócitos TCD4<sup>+</sup> naquela população.<sup>121,122</sup> Com diferenças, igualmente significativas, foram encontrados valores inferiores de Hb, de leucócitos, de plaquetas e de Na e, valores mais elevados, de TGO, de  $\gamma$ GT e de VS, na apresentação clínica da TB MR ou TB ER em co-infectados por VIH, comparativamente ao que aconteceu em imunocompetentes, o que poderá reflectir, de igual modo, doença mais avançada e mais disseminada.<sup>257-265</sup> Estas diferenças na apresentação clínica (sintomas e sinais) e laboratorial da TB MR e da TB ER, entre co-infectados por VIH e imunocompetentes, também se descrevem na TB sensível aos antibacilares,<sup>233,234</sup> ou seja, naquelas, mantém-se a apresentação mais atípica entre co-infectados por VIH e a apresentação mais clássica entre imunocompetentes. Nos primeiros, a maior inespecificidade dos sintomas, dificulta o diagnóstico.

Na TB pulmonar do doente co-infectado por VIH, a cavitação pulmonar na radiografia torácica (característica de TB pós-primária ou secundária) é muito sugestiva do diagnóstico, contudo, à medida que a imunidade declina, são mais prováveis os infiltrados pulmonares não cavitados, sem preferência por andares do pulmão.<sup>266-270</sup>

Nos doentes com TB MR e TB ER deste estudo, o infiltrado bilateral (micronodular ou nodular, alveolar ou intersticial) foi o padrão mais frequente em co-infectados, mas também em imunocompetentes, enquanto, com diferenças, estatisticamente, significativas, a cavidade foi menos frequente nos co-infectados. Se bem que estes

padrões sejam fáceis de entender na co-infecção por VIH, porque a média de linfócitos TCD4<sup>+</sup> era de, apenas, 82 células/ $\mu$ l (valor mediano de 48,5 células/ $\mu$ L), já se torna mais difícil de interpretar, o significado do infiltrado difuso em imunocompetentes com imunidade preservada. Será que a bactéria multirresistente é mais agressiva do que a bactéria sensível aos antibacilares e que, este infiltrado difuso no doente imunocompetente, confirma a maior frequência de infecção/TB primária? Será que se pode ter a mesma interpretação, pelo facto do derrame pleural (padrão típico de TB primária)<sup>268</sup> ter sido mais frequente nos co-infectados por VIH ou, ainda, porque a radiografia normal, que, por vezes se apresenta em doentes com menos de 200 linfócitos TCD4<sup>+</sup>,<sup>266,268-272</sup> ter ocorrido em percentagens, estatisticamente semelhantes, em doentes co-infectados por VIH e em doentes imunocompetentes? Certo é dizer-se, que na TB MR e TB ER, ao contrário do que acontece na TB sensível aos antibacilares, as apresentações radiográficas atípicas, detectadas no radiograma do tórax, não são diferentes em co-infectados por VIH e em imunocompetentes e que estes resultados, reforçam a constatação, de que a maioria dos casos de TB MR e TB ER em Lisboa, resultam de transmissão primária (aquisição de infecção e progressão para doença activa). Por outro lado, ainda, é de referir, que a elevada percentagem de infiltrados pulmonares e de radiografias normais quer em co-infectados, quer em imunocompetentes, dificultou o diagnóstico presuntivo em ambos os grupos de doentes (ajudando, em parte, a explicar o atraso no reconhecimento médico) e, potencialmente, poderá ter favorecido a transmissão na comunidade. Na TB MR pulmonar quer os doentes co-infectados por VIH, quer os imunocompetentes, podem ser altamente contagiosos na ausência de cavitação e mesmo com radiografias normais, tal como acontece com os co-infectados por VIH na TB sensível.<sup>28,268-270,273,274</sup>

A TAC torácica é útil nos doentes com suspeita de TB pulmonar, que têm radiografias normais ou em que as anomalias são inespecíficas, porque pode mostrar mais lesões, caracterizar melhor as cavidades e, em particular, porque permite detectar linfadenopatias. A TAC torácica, dos doentes com TB MR ou TB ER, confirmou muitas das características reveladas pela radiografia, como a maior frequência, em ambos os grupos, do infiltrado nodular ou micronodular, bilateral, dos andares superiores e, ainda, a maior frequência da cavidade em imunocompetentes e do derrame pleural bilateral em co-infectados por VIH. A TAC torácica mostrou, ainda, *de novo*

(comparativamente à radiografia), a ocorrência, com frequência semelhante em ambos os grupos de doentes, do padrão miliar, o que poderá traduzir, sobretudo nos doentes imunocompetentes, maior agressividade da bactéria multirresistente e maior probabilidade de infecção primária disseminada. A TAC torácica evidenciou, ainda, com diferenças, estatisticamente, significativas, que as bronquiectasias são mais frequentes em imunocompetentes e, que o derrame pericárdico e as adenopatias necrosadas hilares e mediastínicas (consideradas como um indicador de mau prognóstico) são mais frequentes em co-infectados por VIH, diferenças estas, que também são reveladas na TAC torácica dos doentes com TB sensível aos antibacilares.<sup>275</sup> Quanto aos restantes padrões encontrados, o derrame pleural unilateral e a condensação (pneumonia) foram mais frequentes em imunocompetentes, enquanto os infiltrados dos andares médios e inferiores foram mais frequentes em co-infectados por VIH, mas em qualquer dos casos, sem diferenças, estatisticamente, significativas. Como se sabe, o complexo primário da TB pode manifestar-se por complicações pleuropulmonares (derrame pleural unilateral, pneumonia ou infiltrado dos andares médio ou inferiores, com adenopatia hilar homolateral), por adenopatias hilares ou mediastínicas (uni ou bilaterais), ou ainda, por formas miliares (disseminadas).<sup>24,25,234</sup> A elevada percentagem destes padrões, entre os doentes de ambos os grupos deste estudo, é, de igual modo, sugestiva, de que a maioria dos casos de TB MR e TB ER nos co-infectados por VIH e nos imunocompetentes, resulta de infecção primária.

Nos exames imagiológicos do abdómen (TAC e ecografia), dos doentes com TB MR e TB ER, as linfadenopatias intra-abdominais com hipodensidade central, correspondente a necrose, foram mais frequentes em co-infectados por VIH, do que em imunocompetentes, tal como se verificou com as linfadenopatias intratorácicas e, tal como é habitual descrever-se, na TB sensível aos antibacilares.<sup>276</sup> Também nos co-infectados por VIH foi mais frequente a presença de hepatoesplenomegalia quer homogénea, quer heterogénea, o que esteve em concordância, com os sinais clínicos e a maior frequência do envolvimento pulmonar e extrapulmonar concomitante, neste grupo de doentes. Estas diferenças, embora estatisticamente significativas, referem-se a uma amostra reduzida de doentes.

Um número apreciável de doentes com TB MR e TB ER, têm exames directos negativos da expectoração e, apenas, os exames culturais são positivos. Nos co-infectados por VIH, com TB MR ou ER pulmonar, o primeiro exame directo da expectoração, com pesquisa de BAAR, foi negativo em 58,4% dos casos e, em 47% destes, foi sempre negativo nos exames subsequentes. Apenas em 41,6% dos doentes o primeiro exame directo foi positivo. Estas percentagens de negatividade do exame directo da expectoração em co-infectados por VIH, compatíveis com a menor prevalência de doença cavitária,<sup>277</sup> são idênticas às que se descrevem nos casos de TB sensível, em que 50 a 62% dos doentes, com culturas positivas da expectoração, têm exames directos negativos<sup>29,30,278</sup> e, em que há mesmo, uma subpopulação de indivíduos infectados, com culturas positivas e completamente assintomáticos.<sup>28</sup> Numa revisão sistemática de estudos, a proporção de casos de TB com exame directo negativo, em doentes co-infectados por VIH variou de 24 a 61%.<sup>30</sup> Se bem que associada com carga bacilar mais baixa, a TB pulmonar, com exame directo negativo da expectoração, é, ainda assim, uma fonte bem documentada de transmissão,<sup>31,32,33</sup> que é frequente nos co-infectados por VIH com doença disseminada ou extrapulmonar.<sup>26,27</sup> Por seu lado, nos imunocompetentes, o primeiro exame directo da expectoração com pesquisa de BAAR, apenas foi negativo em 19,7% dos casos (destes, em 61,5%, sempre negativo) e, em 80,3% dos casos, foi positivo. Portanto, em ambos os grupos de doentes, o diagnóstico pode ser difícil, não só pela inespecificidade dos sintomas e pela radiografia atípica e por vezes normal mas, também, pela negatividade do exame directo da expectoração, o que, em consequência, compromete o início do tratamento. No presente estudo, o exame directo da expectoração negativo, dificultou e atrasou o diagnóstico da TB MR, de forma muito mais significativa nos co-infectados (em mais de 50% dos doentes), do que nos imunocompetentes, o que poderá ter influenciado, também, o prognóstico e determinado, para os dois grupos de doentes, evoluções diferentes. Parece bem assente, que os doentes com expectoração negativa e cultura positiva são menos infecciosos e, exceptuando os imunodeprimidos, têm menos bacilos e que, por outro lado, os casos com microscopia positiva na expectoração são os mais infecciosos e, em geral, têm pior prognóstico.<sup>279</sup> Entre os doentes que tinham o primeiro exame directo da expectoração positivo foi, também, maior a frequência de “muitos” bacilos entre co-infectados por VIH, do que entre os

imunocompetentes, podendo dizer-se que os co-infectados por VIH e TB MR ou TB ER, bacilíferos ou não, são, potencialmente, mais infecciosos do que os imunocompetentes e constituem a principal fonte disseminadora da infecção. A infecciosidade do doente infectado por VIH, com TB pulmonar, já foi anteriormente estudada, demonstrando-se que para uma dada extensão de envolvimento radiográfico, este doente tem mais bacilos na sua expectoração, do que o doente seronegativo.<sup>280,281</sup>

Na globalidade dos doentes, com TB pulmonar ou com TB extrapulmonar, não se verificaram diferenças, estatisticamente, significativas, entre co-infectados por VIH e imunocompetentes, no que diz respeito ao número de locais (em simultâneo e no mesmo doente) em que se identificou o bacilo por exame directo (mediana de um local), embora houvesse tendência, para maior número de amostras positivas, em simultâneo, nos co-infectados. Nestes, a identificação em dois locais diferentes do organismo ocorreu em 21,5% dos doentes e, em mais do que dois, em 8,0%, enquanto nos imunocompetentes, as mesmas percentagens foram respectivamente de 10,8% e 4,0%. A imunodepressão dos co-infectados favorece, sem surpresas, a disseminação da infecção, mas nos doentes imunocompetentes, surpreende, embora com percentagens mais baixas, a identificação simultânea do bacilo em várias amostras de locais diferentes, o que não é habitual na TB sensível e que pode resultar, conforme já dito, de maior agressividade da bactéria multirresistente e, em consequência, da maior propensão à sua disseminação no hospedeiro, apesar da imunidade estar teoricamente preservada. De referir que, no total, em 49 doentes co-infectados por VIH (20,7%) e em 13 doentes imunocompetentes (17,6%) não houve identificação de BAAR em exames directos, qualquer que fosse o tipo de amostra orgânica e, apenas o exame cultural foi positivo para *M. tuberculosis*, o que pode explicar, uma vez mais, o atraso no diagnóstico. Quanto ao exame cultural para *M. tuberculosis*, verificou-se, tal como aconteceu para o exame directo, maior tendência (diferença, estatisticamente, significativa) para resultados positivos em amostras de diferentes locais, em simultâneo, nos co-infectados por VIH (em 31,2% dos doentes houve identificação em duas amostras e em 15,6% em mais do que duas), o que está de acordo com o valor médio dos linfócitos TCD4<sup>+</sup> e o referido na TB sensível e, ainda, confirma a tendência, já evidenciada pelos resultados dos exames directos, para a infecção se caracterizar

pela maior disseminação neste grupo de doentes.<sup>24,25,233,234</sup> Em imunocompetentes, a identificação simultânea por exame cultural de *M. tuberculosis*, em duas ou em mais do que duas amostras, de diferentes locais, foi, respectivamente, de 6,7% e de 2,8%, percentagens ainda assim importantes, porque não são habituais na TB sensível e, podem ser indicadoras, conforme referido, de características particulares da bactéria multirresistente. Em resumo, na TB MR e na TB ER, quando existe envolvimento extrapulmonar, há isolamento da bactéria em diferentes locais do organismo, em simultâneo, mesmo que se trate de doentes imunocompetentes, o que se poderá relacionar com o genotipo da bactéria, que a torne mais virulenta, como aliás já se descreveu em outras circunstâncias quer em meio nosocomial, quer na comunidade.<sup>52,54,60-68,111-114,132,191,282</sup>

Independentemente da resistência de 100% à INH e à RMP, a resistência individual a qualquer dos outros antibacilares de 1ª linha, nos doentes com TB MR ou TB ER, é superior a 60% nas amostras testadas quer de co-infectados, quer de imunocompetentes, com taxas de resistência, respectivamente, de 78,5% e de 82,4% ao EMB, de 82,6% e de 89,2% à SM e de 60,4% e de 65,9% à PZA, o que significa a circulação na região de Lisboa, em doentes com TB MR e TB ER, de estirpes com uma elevada taxa de resistência para todos os antibacilares de 1ª linha. O conhecimento da evolução das resistências aos antituberculosos, em Portugal, esteve, durante muito tempo, prejudicado pela baixa cobertura de testes de sensibilidade em algumas regiões do País<sup>221</sup> e, só a partir de 1997, é que foi implementada a vigilância epidemiológica dos casos de TB MR, designada por Programa SARA (Sistema de Alerta e Resposta Apropriada), que registava todos os casos de TB resistente notificados pelos laboratórios, que efectuavam testes de sensibilidade aos antibacilares.<sup>247</sup> Desde então, a maior parte dos estudos e registos disponíveis, fornecem dados das incidências da monorresistência, na população em geral,<sup>15,184,203,221,248,249</sup> e não dão informação da resistência individual aos antituberculosos entre os doentes com TB MR ou TB ER. Neste estudo analisou-se a prevalência da resistência a cada um dos antituberculosos entre os casos de TB MR e TB ER e não a incidência em Lisboa, mas se levarmos em linha de conta, que em Portugal, de 2000 a 2001, em 4.170 doentes, a resistência à INH era de 2,6%, à RMP de 0.6%, à SM de 7.6% e à PZA de 1,3%<sup>248</sup> e que as autoridades de saúde mencionavam, em 2011, entre os casos de TB a nível nacional,



taxas de resistência à INH, à RMP, ao EMB e à SM, respectivamente, de 8,0%, de 2,2%, de 1,7% e de 11,7%<sup>15</sup> e já em 2013, respectivamente, de 7,0%, de 1,6%, de 1,8% e de 9,6%,<sup>184</sup> pode considerar-se, então que as taxas de resistência individual, que encontramos para os antituberculosos de 1ª linha (excluídas INH e RMP), são, desproporcionadamente, elevadas e indicadoras da grande acumulação sequencial de resistências nos últimos 20 anos. Deve realçar-se, ainda, que para qualquer dos fármacos testados (excluídos INH e RMP), as resistências encontradas são mais elevadas em doentes imunocompetentes do que em doentes co-infectados por VIH. A constatação de maiores taxas de resistência individual aos antibacilares de 1ª linha, entre imunocompetentes, que são o grupo em estudo com maior proporção de casos de TB primária, é, também, reveladora, de que poderão existir níveis elevados de transmissão na comunidade.

Quanto aos antituberculosos injectáveis de 2ª linha, a resistência individual a qualquer dos fármacos é superior a 48%, nas amostras testadas de co-infectados por VIH e de imunocompetentes, com taxas de resistência, respectivamente, de 74,6% e de 61,1% à KM, de 67,4% e de 66,7% à CM e de 52,3% e de 48,2% à AM. No que diz respeito às quinolonas, a resistência individual a qualquer delas é superior a 60%, tanto em co-infectados como em imunocompetentes, com taxas de resistência, respectivamente, de 78,3% e de 80,8% à CFX, de 75,0% e de 66,7% à MFX, de 80,7% e de 62,2% à OFX e de 100% (apenas uma amostra testada) e de 33,3% (apenas três amostras testadas) à SFX. Não estão disponíveis dados nacionais, quanto à incidência ou prevalência das resistências a estas duas classes de antituberculosos, mas estes números indicam, igualmente, a existência de uma elevada taxa de resistências na comunidade aos injectáveis de 2ª linha e às quinolonas, generalizada aos dois grupos de doentes, mas mais evidente em co-infectados por VIH, que são o grupo com maior proporção de TB sensível anterior ao diagnóstico e com pior adesão ao tratamento desta e da TB MR, o que favorece a sua acumulação sequencial. Estas taxas de resistência, que definem a TB ER, são preocupantes, porque limitam, significativamente, as opções terapêuticas quer para o tratamento presuntivo, quer para o tratamento definitivo da TB MR. Os resultados mostram, ainda, neste grupo de doentes com TB MR e TB ER, co-infectados por VIH e imunocompetentes, taxas de resistência individual, respectivamente, de 80,3% e de 92,5% à ETO, de 54,6% e de 100% à CFZ, de 53,9% e de 42,9% à RFB, de

36,0% e de 50,0% à CS e de 42,2% e de 27,3% ao PAS, o que diminui, ainda mais, as probabilidades de êxito terapêutico na TB ER, já que na melhor das hipóteses, a possibilidade das estirpes de *M. tuberculosis* serem sensíveis à ETO é de, aproximadamente, 16%, à CFZ de 36%, à RFB de 50%, à CS de 61% e ao PAS de 63%. Resta como opção mais válida o LZD, cuja resistência foi encontrada em apenas uma de 13 amostras testadas,<sup>283</sup> provenientes de igual número de doentes (três co-infectados por VIH e 10 imunocompetentes), indicando, na prática, a possibilidade de uma estirpe ser sensível em aproximadamente 92% dos casos. Apesar de nem todos os isolados terem sido testados para o mesmo número de fármacos e, a sê-lo, a taxa individual de resistências poder ser maior ou menor, na globalidade, a prevalência encontrada de resistências aos diferentes antituberculosos de 1ª e de 2ª linha, entre os doentes com TB MR e TB ER deste estudo, são uma ameaça grave à Saúde Pública, fazendo antever a evolução para a TB TR, se não for otimizada a adesão à terapêutica e se não for interrompida a cadeia de transmissão. De facto, também neste estudo, entre 2001 e 2011, foram diagnosticados nove casos de TB TR, dos quais quatro (todos co-infectados por VIH-1) com história de TB sensível anterior, que fora incorrectamente tratada e evoluiu, gradualmente, para a resistência a todos os fármacos testados e cinco (três co-infectados por VIH e dois imunocompetentes) sem história de TB no passado, correspondendo a casos de TB primária e indicando que está em curso a transmissão e a disseminação destas estirpes, potencialmente, intratáveis, na comunidade. Se bem que a resistência registada, para além da TB ER seja difícil de interpretar, dada a pouca fiabilidade dos testes de susceptibilidade para os antituberculosos de 2ª linha,<sup>284,285</sup> o número de fármacos a que uma estirpe de *M. tuberculosis* é resistente parece ser um factor predictivo, independente, de mortalidade.<sup>55</sup>

Em doentes com TB MR, o padrão de resistências mais frequente quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes, é o da resistência, simultânea, à INH, RMP, EMB e SM (51,3% e 36,5% respectivamente) e, em doentes com TB ER, é o da resistência simultânea à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX e PAS em co-infectados e o da resistência à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX e OFX, em imunocompetentes.

Nos doentes com TB MR e história de TB no passado, sensível aos antibacilares e que fora incorrectamente tratada, o padrão de resistência à INH, RMP, EMB e SM é o mais frequente quer em co-infectados (38,8%), quer em imunocompetentes (21,1%) e é de igual modo, o mais frequente nos co-infectados (45,5%) e nos imunocompetentes (27,3%) que não têm história de TB no passado ou que a tiveram e a curaram há mais de quatro anos. Portanto, neste estudo, detecta-se um padrão de resistências típico na TB MR, prevalente de 1993 a 2012, caracterizado por resistência à INH, RMP, EMB e SM, que é comum a co-infectados por VIH e a imunocompetentes quer tenham ou não tido TB anterior e que levanta a suspeita de transmissão mantida na comunidade entre os dois grupos, provavelmente, dos doentes com história prévia de TB para os doentes sem história prévia de TB e dos co-infectados para os imunocompetentes, já que os primeiros prevaleceram nos primeiros anos da epidemia. Curiosamente, em duas publicações,<sup>227,245</sup> Portugal e colaboradores, deram conta de terem isolado, de 1996 a 1997, 43 e 71 estirpes multirresistentes, provenientes, respectivamente, de 11 e 14 hospitais de Lisboa e identificadas, na maioria dos casos, em doentes co-infectados por VIH, toxicodependentes e com má adesão ao tratamento, em que havia um padrão predominante de resistência à INH, RMP, SM e, em alguns casos, ao EMB. Os padrões de resistência identificados neste estudo são compatíveis, também, com a existência de uma cadeia de transmissão, mas só a genotipagem o pode comprovar.

Nos doentes com TB ER e história de TB sensível, incorrectamente tratada no passado, em que houve aquisição sucessiva de resistências por má adesão ao tratamento, o padrão de resistência à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX e PAS é o mais frequente entre co-infectados por VIH (mas apenas quatro doentes) e nenhum padrão se destaca entre doentes imunocompetentes. Em doentes sem história de TB sensível no passado ou correctamente tratada há mais de quatro anos, fazendo admitir TB primária, o padrão mais frequente é o de resistência à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX e OFX quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes (apenas três e dois doentes, respectivamente), muito semelhante ao dos doentes com TB ER secundária. A amostra tem reduzidas dimensões, mas faz, de igual modo, suspeitar de transmissão activa entre os dois grupos e, pelos mesmos motivos, que foram apontados para a TB MR, de doentes com história prévia de TB para doentes sem história prévia de TB e de co-infectados por VIH para

imunocompetentes. Esta dedução só poderá ser esclarecida com a genotipagem. Os padrões de TB ER que foram encontrados, limitam, quase de todo, as alternativas terapêuticas para esquemas de tratamento presuntivo ou orientados pela caracterização fenotípica das resistências condicionando, assim, a cura e o prognóstico. Não encontramos diferenças significativas nos padrões de resistências, quando os analisámos em função do sexo, da raça, da nacionalidade ou pelo facto dos doentes terem ou não residência fixa.

Na avaliação das variáveis no tempo, que atrasaram o diagnóstico de TB MR ou de TB ER e que, em consequência, influenciaram os resultados terapêuticos e o prognóstico verificou-se que, nos doentes com TB pulmonar, cujo primeiro exame directo da expectoração foi negativo, o tempo mediano até ao primeiro exame directo positivo, naqueles em que a expectoração veio a positivar, foi de 12 dias em co-infectados por VIH (70 doentes) e de quatro dias em imunocompetentes (cinco doentes), o que atrasou, em particular nos primeiros, o diagnóstico presuntivo de TB (suportado na baciloscopia) e o início de tratamento (para TB sensível aos antibacilares ou, no caso de suspeita, para TB MR). A maior frequência de baciloscopias negativas nos co-infectados por VIH, pelos motivos já anteriormente referidos, justificou as diferenças de tempo.

Nos doentes com TB pulmonar e primeiro exame directo da expectoração positivo, o tempo que decorreu até à confirmação da MR (identificação de *M. tuberculosis* em exame cultural e resultado do teste de sensibilidade aos antituberculosos de 1ª linha), foi de 32 dias em co-infectados (94 doentes) e de 29 dias em imunocompetentes (53 doentes), o que atrasou, salvo em raros casos de forte suspeita clínica, o início da terapêutica definitiva para TB MR, estando os doentes, até esse momento, na maioria dos casos, medicados presuntivamente para TB sensível e submetidos a um tratamento incorrecto. Também aqui, o tempo necessário até à confirmação do diagnóstico foi maior para co-infectados por VIH.

Em 62 doentes co-infectados por VIH e em oito doentes imunocompetentes, o exame directo da expectoração foi sempre negativo e, nestes, só o tempo que mediou até à primeira cultura positiva para *M. tuberculosis* (sem a informação do teste de sensibilidade) foi, ainda, maior, objectivamente, de 37 dias em co-infectados e de 42 dias em imunocompetentes, o que determinou um atraso acrescido no início do

tratamento (para TB sensível ou para TB MR se havia essa suspeita), realizado uma vez mais e na maior parte dos casos, de forma incorrecta, já que depois disso, decorreria ainda mais algum tempo, até à informação do teste de sensibilidade e até ao tratamento definitivo da TB MR. As estirpes de TB MR aparentaram, assim, ter maior dificuldade de crescimento, em cultura, do que as estirpes sensíveis. Independentemente da maior ou menor carga bacilar, a qual determina exames directos positivos da expectoração com maior ou menor precocidade, as estirpes de TB MR requereram um tempo mais longo para serem identificadas em cultura, não tanto, quando se recorreu ao meio sólido de Lowenstein-Jensen em 1993 e 1994 (apenas em 18 doentes), para o qual podem ser necessárias seis a oito semanas até ao crescimento da micobactéria,<sup>286</sup> mas, sobretudo, quando a partir de então se usou o meio líquido de Bactec 460 TB, ou o meio líquido de Bactec MGIT 960 (293 doentes), para os quais se descrevem, tempos médios de crescimento de oito a 14 dias.<sup>287-289</sup> As estirpes multirresistentes, identificadas neste estudo, tiveram um crescimento lento, que dificultou a sua identificação e atrasou os testes de sensibilidade, característica, que nada tem a ver com a sua patogenicidade.

Assim, no conjunto dos doentes, com ou sem TB pulmonar, o tempo mediano entre um primeiro exame directo da expectoração (negativo ou positivo) e a informação do resultado do teste de fenotipagem, revelador da MR, ou seja, o tempo mediano necessário até ao início do tratamento correcto, foi de 47 dias para os co-infectados por VIH (237 doentes) e de 35 dias para os imunocompetentes (74 doentes). Esta diferença foi, estatisticamente, significativa, indicando que o tempo necessário para o diagnóstico definitivo de TB MR, no co-infectado por VIH, é maior do que no imunocompetente, o que pode ter implicações na infecciosidade do doente, nos resultados terapêuticos e no prognóstico. Nuns e noutros doentes, o atraso no diagnóstico definitivo foi muito grande e, a falta de informação atempada, favoreceu a terapêutica incorrecta (para aqueles casos em que não se suspeitou de TB MR) e, em consequência, promoveu, potencialmente, a acumulação de resistências, tornando-se os doentes, progressivamente, mais difíceis de curar. A indicação do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de que, apenas, devem decorrer cerca de 28 dias, entre a recepção de uma amostra e o diagnóstico final,<sup>290,291</sup> só em raros doentes foi conseguida.

O tempo que mediou entre a identificação da bactéria na cultura e a informação de MR (realização do teste de sensibilidade aos antibacilares de 1ª linha) foi de 17 dias para co-infectados (237 doentes) e de 15 dias para imunocompetentes (74 doentes), o que contribuiu para este longo atraso no início do tratamento correcto da TB MR. Neste aspecto, também o tempo necessário para se obter a informação do resultado, foi muito superior ao que é calculado, porque, mesmo tendo em conta que em 1993 e 1994 se recorreu ao meio sólido de Middlebrook (18 doentes), o qual requer, em média, 14 a 21 dias para se obter a resposta, na maioria dos doentes (n=293), utilizou-se os meios líquidos de Bactec, que, em regra, permitem obter o resultado em quatro a sete dias.<sup>292</sup>

De igual modo, é de assinalar, que após o início do tratamento dos doentes com TB MR, o período que decorreu, até ao conhecimento do teste de sensibilidade para os antituberculosos de 2ª linha, foi, ainda, maior. O tempo que decorreu entre a informação do resultado de TB MR e a do de TB ER não foi precisado neste estudo, mas foi longo, calcula-se que tenha variado entre um e três meses, atrasando, também, o início do seu tratamento correcto, em particular, nos doentes em que a TB ER era primária e a suspeita menor e que, por isso, mantiveram terapêutica para TB MR, estando, potencialmente, em risco de acumulação adicional de mais resistências e, uma vez mais, de piores resultados terapêuticos. Quando não há dificuldades no crescimento da micobactéria, os resultados dos testes de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha são revelados em duas fases, com um primeiro resultado de teste de sensibilidade em meio líquido, para quinolonas e aminoglicosídeos, com tempo de demora de 12 dias e um segundo resultado em meio sólido, para PAS e CS, com um prazo de execução de 42 dias. Acresce a este tempo, o da subcultura inicial, prévia, que pode demorar até 60 dias.<sup>293</sup>

Para a globalidade dos doentes e em consequência de todos estes atrasos, o tempo médio entre a data do internamento e a obtenção do resultado, ou seja, o início do tratamento correcto da TB MR (nos doentes que de facto tinham TB MR e não TB ER) foi de 45 dias em co-infectados por VIH e de 32 dias em imunocompetentes, diferença, que é, estatisticamente, significativa e que pode justificar, um pior prognóstico para os co-infectados. Por fim, o tempo mediano de doença não diagnosticada, definido pelo período entre o início dos sintomas e/ou dos sinais e a data do diagnóstico de TB MR

ou de TB ER e, em consequência, do início do tratamento definitivo e correcto, foi de 78 dias em co-infectados por VIH e de 76 dias em imunocompetentes, com valores, respectivamente, de 77 e de 74 dias, no caso de se tratar de TB pulmonar e, respectivamente, de 91 e de 99 dias, no caso de se tratar de TB extrapulmonar. Na TB extrapulmonar, em particular, estes tempos mais longos resultaram, também, do maior número de diagnósticos estabelecidos apenas por cultura e da maior dificuldade na programação da colheita das amostras. Assim, verificam-se demoras médias muito longas de doença não diagnosticada, que traduzem atrasos entre o início dos sintomas e a procura de cuidados de saúde por parte do doentes, menor suspeição de TB por parte dos clínicos, apresentações clínicas bizarras, mas, também, dificuldades na identificação e na caracterização da bactéria.

Nos doentes co-infectados por VIH, com história de TB prévia sensível aos antibacilares (demonstrada por cultura e teste de sensibilidade) e que foi, incorrectamente tratada, por má adesão (103 doentes), o tempo que decorreu, desde o início desse tratamento (data do diagnóstico) e a identificação, de MR adquirida (data do diagnóstico) foi de 14 meses, enquanto que nos imunocompetentes (19 doentes) foi de 34 meses (mais do dobro), diferença que é, estatisticamente, significativa e que confirma a maior facilidade e rapidez do co-infectado por VIH, não aderente ao tratamento, em adquirir resistências aos antituberculosos, por apresentar maior carga bacilar<sup>57,280,281,294,295</sup> e de, mais rapidamente as transmitir na comunidade.

Os longos tempos de doença não diagnosticada, nos co-infectados por VIH e nos imunocompetentes com TB MR e TB ER, contribuem, assim, para uma taxa elevada de insucesso terapêutico, para tempo de infecciosidade prolongado e para risco aumentado de transmissão, criando, mesmo, as condições necessárias à ocorrência de epidemias. Várias destas epidemias foram descritas em todo o Mundo, particularmente entre co-infectados por VIH quer em ambiente nosocomial,<sup>59,132,296,297</sup> quer na comunidade.<sup>115,116,298</sup> Neste estudo, os atrasos no diagnóstico tiveram como consequência que em 76 doentes co-infectados por VIH (32,1%) e em oito doentes imunocompetentes (10,8%), a identificação de TB MR ou de TB ER fosse posterior à sua morte, nunca tendo sido, por isso, tratados correctamente. Muitos deles ou fizeram, apenas, tratamento para TB sensível, ou nem sequer iniciaram tratamento, mantendo-se durante esse período altamente infecciosos. Esta diferença entre os dois

grupos, foi, de igual forma, estatisticamente, significativa e assinala um risco de progressão mais rápido da doença não tratada e de maior mortalidade, no grupo dos co-infectados por VIH, em resultado da sua imunodeficiência.

### 6.3. TRATAMENTO E EVOLUÇÃO

Em 114 (93,4%), dos 122 doentes com TB MR ou ER, que tiveram, antes, TB sensível e incorrectamente tratada, o diagnóstico presuntivo de MR foi admitido à data do internamento ou, em algum momento após o primeiro resultado do exame directo da amostra, positivo para BAAR (por história clínica suspeita) ou, ainda, depois do primeiro exame cultural positivo para *M. tuberculosis* (por não ter havido resposta terapêutica), pelo que se instituiu tratamento para TB MR adquirida, antes do conhecimento do teste de sensibilidade. Em 165 (87,3%), dos 189 doentes com TB MR ou ER, sem história de TB anterior ou com história de TB que não se relacionava com o episódio presente, porque tinha sido tratada e curada, o diagnóstico presuntivo de MR foi admitido mais tardiamente, no decurso da doença, em regra, depois do resultado do exame directo positivo para BAAR ou do exame cultural positivo para *M. tuberculosis* e de não ter havido resposta ao tratamento para TB sensível, pelo que só se iniciou nesse momento, o tratamento presuntivo para TB MR primária, de igual modo, com desconhecimento do teste de sensibilidade. Para ambos os grupos de doentes houve um elevado grau de suspeição de TB MR, fundamentado na história clínica e epidemiológica e na ausência de resposta à terapêutica, não assentando, neste facto, razões para o insucesso do tratamento, mas sim, em esquemas terapêuticos incorrectos, que foram determinados pelo desconhecimento das sensibilidades. Se bem que seja muitas vezes sugerido, na suspeição, o uso de regimes empíricos, com recurso a um regime de referência de fármacos de 2ª linha, que cubra o padrão mais provável de resistências prévias e que previna a sua acumulação, não se sabe, no entretanto, qual é o número ideal de fármacos a utilizar e, por outro lado, esta prática nunca foi validada em ensaios clínicos.<sup>179</sup> A maior parte dos autores usa regimes de quatro a seis fármacos, dada a carga bacilar elevada, as lesões crónicas e a pouca potência e penetração dos fármacos de 2ª linha, sendo consensual, que um aminoglicosídeo injectável e uma quinolona devem ser sempre incluídos.<sup>179</sup> Em todos



os doentes deste estudo, que iniciaram tratamento presuntivo para TB MR foi comum o uso destas duas classes de fármacos. Dos 279 doentes, que iniciaram o tratamento presuntivo para TB MR, 214 eram co-infectados por VIH (90,2% do total) e 65 eram imunocompetentes (87,8% do total), o que indica um maior grau de suspeição, para a pior adesão dos doentes co-infectados, o que poderia influenciar positivamente o prognóstico, comparativamente aos doentes imunocompetentes. Contudo, os piores resultados terapêuticos que identificámos em co-infectados por VIH, sugerem que esta diferença no grau de suspeição não é determinante no sucesso do tratamento. Em resumo, 279 doentes iniciaram tratamento presuntivo para TB MR de forma incorrecta (sem conhecimento do teste de sensibilidade de *M. tuberculosis*) e 32 doentes não fizeram tratamento presuntivo para TB MR (por nunca ter sido admitido o diagnóstico), permanecendo sob tratamento para TB sensível, na lógica incorrecta, até à informação das sensibilidades aos antituberculosos. Nenhum doente iniciou tratamento presuntivo para TB ER e o tempo suplementar, que decorreu entre a obtenção do resultado do teste de sensibilidade aos antituberculosos de 1ª linha e o conhecimento do teste de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha (nunca inferior a um mês e variável de um a três meses), ou seja até ao diagnóstico definitivo de TB ER, determinou, que alguns dos doentes, devido a não ter havido resposta clínica, fossem submetidos a mais esquemas de terapêutica presuntiva para TB MR, do que resultou, em princípio, a acumulação de mais resistências. Oitenta e quatro doentes, porque faleceram antes do diagnóstico (antes de se conhecerem as sensibilidades de *M. tuberculosis*), nunca chegaram a iniciar o tratamento correcto para TB MR ou para TB ER. Assim, para além da eventual responsabilidade de doentes e de médicos, os atrasos significativos na informação dos resultados microbiológicos tiveram por consequência a instituição de esquemas de terapêutica antituberculosa inadequados, muito prolongados, que, em conjunto, contribuíram para o insucesso terapêutico e para o mau prognóstico dos doentes com TB MR ou TB ER.

Uma vez estabelecido o diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER, os regimes terapêuticos foram individualizados e desenhados, de acordo com os resultados dos testes de sensibilidade aos antituberculosos e o histórico da terapêutica, anteriormente, prescrita. Não houve nenhum critério de referência para a escolha dos fármacos a incluir nos regimes terapêuticos, tendo, também, variado o número médio

de antituberculosos prescritos e nenhum doente foi submetido a tratamento cirúrgico. De 227 doentes que iniciaram tratamento definitivo após o diagnóstico de TB MR ou de TB ER, ou seja individualizado de acordo com o teste de sensibilidade, houve acesso à informação do número de regimes terapêuticos efectuados por 171, a qual indica, um número médio de 1,52 regimes prescritos por doente, com tendência para a prescrição de um maior número em co-infectados por VIH (um regime em 53,6% dos doentes e dois ou mais regimes em 46,4%) do que em imunocompetentes (um regime em 65,2% e dois ou mais regimes em 34,7%) e que poderá reflectir maior intolerância ou pior adesão dos primeiros. Por outro lado, comparando a média/mediana do número de regimes terapêuticos por doente, consoante o diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER, ela é de um regime no primeiro dos casos e de dois regimes no segundo, o que se pode entender pela maior ineficácia, pela maior toxicidade e pela pior adesão relacionadas com os fármacos usados no tratamento desta última.

A adesão é um problema *major* no tratamento da TB MR, devido à longa duração do tratamento e aos efeitos adversos dos fármacos de 2ª linha.<sup>179</sup> Em 137 doentes com o diagnóstico definitivo de TB MR ou de TB ER, que iniciaram tratamento e em que esteve disponível a informação quanto à adesão à terapêutica, 89 (65%) tiveram boa adesão ao tratamento (completaram-no) e 48 (35%) tiveram má adesão (interromperam-no temporariamente, abandonaram-no em definitivo ou não o tomaram com regularidade). A percentagem elevada de doentes com má adesão (27,8% na TB MR e 52,5% na TB ER), ocorrida, em particular, na TB ER, favorece a acumulação das resistências e compromete, ainda mais, os resultados terapêuticos. Com diferenças significativas, foi mais frequente a má adesão à terapêutica entre os co-infectados por VIH, verificada em 17 doentes com TB MR (17,5%) e em 15 com TB ER (37,5%), do que entre os imunocompetentes, verificada em 10 doentes com TB MR (10,3%) e em seis com TB ER (15,0%), confirmando-se a pior adesão do primeiro grupo. Quando se tentou relacionar a adesão à terapêutica com a taxa de cura, só estavam disponíveis, para análise, os dados de 129 doentes, pelo que não são possíveis associações robustas, contudo, constatou-se que ela foi sempre maior nos imunocompetentes, independentemente do grau de adesão ao tratamento. Em co-infectados por VIH, a taxa de cura foi de 21,3% quando houve boa adesão e de 37,9% quando houve má adesão e, em imunocompetentes, a taxa de cura foi de 82,6% na

boa adesão e de 68,8% na má adesão. Destes resultados, poderá concluir-se que a má adesão ao tratamento determina menores taxas de cura em imunocompetentes mas não em co-infectados ou, então, que a menor taxa de cura que ocorre em co-infectados por VIH é independente do grau de adesão? Os resultados surpreendem pelas taxas de cura tão elevadas em imunocompetentes, que se poderão relacionar com a sua imunidade preservada mas, também, pelo facto de em co-infectados por VIH se ter verificado maior taxa de cura na má adesão ao tratamento, do que na boa adesão. Tal facto em co-infectados só poderá ser explicado pelo enviesamento da amostra (muito restrita de doentes com má adesão, a maioria sob TARV e dos últimos anos do estudo), mas, de igual modo, pela relativa indefinição do método de avaliação da adesão, que coloca no mesmo patamar e, não separa nem quantifica os casos de interrupção, de abandono e de toma irregular da medicação. Nos últimos anos do estudo, é de referir, ainda, que os testes de amplificação de ácidos nucleicos para a identificação da bactéria e os testes moleculares de resistências à INH e RMP foram, em alguns doentes, um contributo valioso para a orientação terapêutica,<sup>299-301</sup> por permitirem inícios mais rápidos e acertados do tratamento e, numa altura em que os clínicos passaram a estar mais sensibilizados para a rapidez de aquisição de resistências, quando a adesão era má. Seja como for, apesar de tempos demorados de diagnóstico e de muitos doentes terem má adesão à terapêutica, os resultados indicam, que, mesmo nestes, é possível tratar com sucesso a TB MR e TB ER. Mas será a má adesão uma questão puramente comportamental e mais ligada a doentes co-infectados por VIH ou é resultante da toxicidade ou intolerância aos fármacos, sendo rapidamente ultrapassada com a substituição dos mesmos?

Nos 137 doentes em que havia informação da adesão à terapêutica, ocorreram 11 casos de toxicidade, nos 89 que tiveram boa adesão (oito entre 64 co-infectados por VIH e três entre 25 imunocompetentes), ou seja em 12,4% dos doentes e, 29 casos de toxicidade, nos 48 que tiveram má adesão (20 entre 32 co-infectados por VIH e nove entre 16 imunocompetentes) ou seja em 60,4% dos doentes. Esta diferença foi, estatisticamente, significativa, com maior número de casos de toxicidade entre doentes que têm má adesão ao tratamento, do que entre doentes com boa adesão, sejam eles co-infectados por VIH ou imunocompetentes. Assim, parece que há uma relação directa entre a toxicidade e a má adesão ao tratamento (quer em co-

infectados por VIH, quer em imunocompetentes). A toxicidade aos antibacilares poderá ser responsável por 60,4% de casos de má adesão e esta não ser, assim, uma questão, exclusivamente, comportamental. Quer na boa, quer na má adesão, a percentagem de casos de toxicidade ocorrida em doentes co-infectados por VIH e em doentes imunocompetentes foi semelhante, não se tendo verificado no nosso estudo uma predisposição particular dos co-infectados à toxicidade dos antibacilares e isto, apesar da elevada percentagem de co-infecção por VHC e VHB (respectivamente de 66,3% e de 12,6%) e do baixo valor médio de linfócitos TCD4<sup>+</sup> (82 células/ $\mu$ L). Embora sem diferenças significativas entre TB MR e TB ER, a percentagem de casos de toxicidade foi mais frequente no tratamento desta última, o que está de acordo, conforme referido anteriormente, com a necessidade de recorrer a fármacos mais tóxicos e em maior número. Dezasseis (57,1%) dos doentes co-infectados por VIH, em que se verificou toxicidade à terapêutica antituberculosa, estavam em TARV, o que pode ter contribuído para maior risco de toxicidade e, em consequência, para pior adesão.

Os resultados mostram, também, que independentemente do valor de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, existem diferenças, estatisticamente significativas, na taxa de cura, entre co-infectados por VIH que fazem TARV concomitantemente com a terapêutica antituberculosa (avaliada em 82 doentes) e, co-infectados por VIH que não a fazem ou que a interrompem (avaliada em 142 doentes), com taxas de cura de 24,4% e de 7,0%, respectivamente. A percentagem de não curados é elevada, entre os doentes co-infectados por VIH, que não estão em TARV, antes do diagnóstico de TB MR ou de TB ER (93%). A TARV é fundamental no processo de cura da TB sensível,<sup>138-140,144,156-158,231,302-304</sup> assim como foi importante para os doentes deste estudo com TB MR e TB ER que curaram e, provavelmente, deverá ser iniciada em todos os infectados por VIH, independentemente do valor de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, como forma de prevenir a infecção, a reactivação e acelerar a resposta ao tratamento. As taxas de cura na TB MR e TB ER foram mais influenciadas pela toxicidade dos antituberculosos, com a consequência na adesão e pela disponibilidade da TARV, do que pela ineficácia dos antituberculosos. Assinale-se, que não se observou, entre os co-infectados por VIH, nenhum caso clínico de TB MR ou ER que fosse atribuível à reconstituição imunitária após a instituição da TARV e que fizesse supor infecção prévia. Da literatura, não é claro, comparativamente

à TB sensível, se a SRI é mais frequente ou mais grave em doentes co-infectados por VIH e TB resistente, porque as cargas bacilares são provavelmente maiores, a potência dos antituberculosos de 2ª linha é menor e o tempo para a negativação das culturas está aumentado.<sup>305-307</sup>

Com base nos resultados disponíveis de 286 doentes, a taxa de cura encontrada para a globalidade dos doentes com TB MR ou TB ER deste estudo, foi de 13,4% em co-infectados por VIH e de 62,9% em imunocompetentes. Nos doentes com TB MR foi de 10,8% em co-infectados e de 64,3% em imunocompetentes e nos doentes com TB ER, foi de 27% em co-infectados e de 60% em imunocompetentes. Quer na TB MR, quer na TB ER, as taxas de cura foram sempre maiores em doentes imunocompetentes. A OMS mencionava no seu relatório anual de 2012, um sucesso terapêutico de 48%, em mais de 25.000 casos de TB MR que tinham iniciado tratamento em 2009 e, numa subanálise de 200 doentes com TB ER, um sucesso de 33%.<sup>8</sup> Já no seu relatório anual de 2014, referia taxas globais de sucesso, na TB MR, de 48% e, na TB ER, de 19%.<sup>3</sup> Na maior coorte da literatura, que inclui 6.724 doentes avaliados desde 1970, provenientes de 26 centros, 11% dos quais co-infectados por VIH, é referida uma taxa de sucesso na TB MR de 62% e na TB ER de 40%.<sup>308</sup> Também a DGS referia que, em 2009, em Portugal, o sucesso terapêutico da TB MR fora de 56% e da TB ER de 48%<sup>14</sup> e, em 2011, na TB MR de 68,6%.<sup>184</sup> Mesmo com os tratamentos mais eficazes, as taxas de cura na TB MR são mais baixas do que na TB sensível<sup>5,309-313</sup> e, na melhor das hipóteses, atingem os 75%,<sup>311,314-316</sup> enquanto que na TB ER, independentemente da forma como sejam definidos os resultados, todos os estudos indicam alta probabilidade de falência terapêutica e de mortalidade e o sucesso terapêutico raramente excede 50%<sup>55,74-79,315,317,318</sup> Assim, as taxas de cura que foram encontradas neste estudo em co-infectados por VIH, ficam aquém do mencionado em outras coortes e em outros Centros, enquanto em imunocompetentes, elas atingem e até ultrapassam os melhores indicadores quer na TB MR quer na TB ER, para o que terá contribuído o estado imunitário, a melhor adesão e o facto deste grupo de doentes prevalecer nos últimos anos do estudo. Apesar dos co-infectados por VIH terem piores taxas de cura, elas foram paradoxalmente melhores na TB ER, do que na TB MR. Este resultado foi, provavelmente, influenciado pelo facto da TB MR ter prevalecido em co-infectados por VIH nos primeiros anos da epidemia (apenas nove casos de TB ER até

2000), num período que foi caracterizado por menor suspeita e sensibilização para o diagnóstico, por maiores atrasos no diagnóstico e, ainda, por menor conhecimento e pouca prática no manejo destes doentes. Em contrapartida, nos anos mais recentes, que foram caracterizados por subida da prevalência da infecção em imunocompetentes, por maior grau de suspeição e por maior experiência no diagnóstico e no tratamento, aumentaram os casos diagnosticados de TB ER, os quais, dominaram entre co-infectados por VIH sob TARV.

Quando se caracterizou a taxa de cura nos doentes sem história de TB prévia ou com TB sensível anterior, que fora correctamente tratada e considerada curada há mais de quatro anos (189 doentes) e nos doentes com história prévia de TB sensível, mas incorrectamente tratada (122 doentes), verificou-se que no primeiro grupo (supostamente com TB MR primária ou reinfeção) ela foi mais elevada nos imunocompetentes (79,5% vs 53,3% em co-infectados). Tal resultado poderá ser devido ao melhor estado imunitário, já que o grau de suspeição do diagnóstico foi semelhante, mas que, no segundo grupo (supostamente com TB MR secundária), foi mais elevada em co-infectados por VIH (46,7% vs 20,5% em imunocompetentes), de certo, por existir maior grau de suspeição do risco de má adesão e do diagnóstico, neste grupo de doentes, determinando início mais rápido do tratamento presuntivo. Entre co-infectados por VIH e imunocompetentes não foram encontradas diferenças, estatisticamente, significativas nas taxas de cura, consoante se tratasse de TB pulmonar ou de TB extrapulmonar. Os atrasos no estabelecimento do diagnóstico e as taxas baixas de cura, em particular nos co-infectados por VIH, perpetuam em muitos doentes a infecção e ajudam à manutenção da epidemia de TB MR e de TB ER.

Avaliaram-se as diferenças nas taxas de cura e na sobrevida, entre os períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012, já que nos primeiros anos, como se disse, o diagnóstico de TB MR ou de TB ER poderá ter sido mais demorado, por não haver, ainda, sensibilidade e experiência clínica em lidar com o problema das resistências e por a disponibilização por rotina, do teste de sensibilidade aos antituberculosos de 2ª linha, só ter ocorrido a partir de 2000. Porque, antes desta data, o teste só foi realizado em alguns doentes, podiam os restantes estarem erradamente classificados e tratados como casos de TB MR, tendo, de certo esta circunstância afectado o diagnóstico e o tratamento, quer da TB MR quer da TB ER. Pelo contrário, nos últimos anos, houve, não só, maior suspeição

clínica do diagnóstico e maior experiência na intervenção terapêutica, como, também, a utilização ocasional, a partir de 2010, de testes de diagnóstico molecular (*Genotype MTBDRplus*®, HAIN, Germany), que permitiram, a partir de amostras em que o exame directo era positivo, identificar as resistências à INH e à RMP, encurtar o tempo de diagnóstico da TB MR para 48 horas<sup>299-301,319-327</sup> e, em alguns doentes, iniciar mais cedo o seu tratamento. Assim, no período de 1993 a 2000, a maioria dos 180 doentes tinha TB MR (171 com TB MR e nove com TB ER), não se podendo excluir, pelas razões já apontadas, que outros tivessem TB ER, enquanto que, no período de 2001 a 2012, o número de doentes com o diagnóstico de TB ER foi mais elevado (57 com TB MR e 49 com TB ER). Em ambos os períodos temporais, a percentagem de curados foi sempre maior para os doentes imunocompetentes, do que para os doentes co-infectados por VIH, com diferenças que foram estatisticamente significativas. De 1993 a 2000, a taxa de cura foi de 61,5% para imunocompetentes e de 9,1% para co-infectados e, de 2001 a 2012, foi de 63,9% para imunocompetentes e de 22,9% para co-infectados. Para os dois grupos de doentes, a taxa de cura foi superior para os que foram tratados de 2001 a 2012. Quando se considerou separadamente a TB MR e a TB ER em ambos os períodos temporais, as percentagens de cura foram, também, sempre maiores em imunocompetentes do que em co-infectados por VIH, embora na TB ER, no período de 1993 a 2000, não houvesse diferenças estatisticamente significativas, porque a amostra era reduzida. A análise estatística mostrou, ainda, para os co-infectados por VIH, em ambos os períodos temporais, e para os imunocompetentes, no período de 2001 a 2012, taxas de cura de TB ER superiores às de TB MR, que se interpretam, tal como referido anteriormente, pelo facto de até 2000 (período de maiores dificuldades diagnósticas e terapêuticas, quer para TB MR quer para TB ER), terem sido avaliados apenas nove casos de TB ER, dos quais dois curaram, e por, depois dessa data (com melhoria do diagnóstico e do tratamento), a proporção de casos de TB ER, ter sido semelhante à de casos de TB MR.

Quando se comparou o efeito do período temporal nas taxas de cura, os resultados mostraram que, independentemente de se tratar de TB MR ou de TB ER, houve melhores taxas de cura no período de 2001 a 2012, com possibilidade de cura 1,41 vezes maior, do que no período de 1993 a 2000 e que, independentemente do período

temporal, os co-infectados por VIH tiveram uma probabilidade 10 vezes maior de não se curarem, do que os imunocompetentes.

Quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes as taxas de cura que encontramos na TB MR e TB ER são, como esperado, muito inferiores às que se descrevem para ambos os grupos de doentes na TB sensível (por exemplo, em Portugal, 87% em 2009, 84,7% em 2010 e 81,4% em 2011) <sup>15,16</sup> e que atingem 95%.<sup>303,328-330</sup> Documentaram-se algumas dificuldades no diagnóstico e, em consequência, na terapêutica da TB MR e da TB ER, atrás relatadas, tais como negligência por parte dos doentes, atrasos no diagnóstico, má adesão ao tratamento, relacionada, em parte, com a toxicidade dos antituberculosos e comorbilidades. Entretanto questiona-se se não haverão outros factores que sejam responsáveis pelos piores resultados verificados na TB MR e TB ER? Como se disse, não existirão nos doentes do nosso estudo, factores intrínsecos da bactéria multirresistente, que a tornem mais virulenta e letal?

Definiu-se tempo mediano de sobrevivência, como o período entre a data do diagnóstico e a data da morte ou a data de 31 de Dezembro de 2012 para os sobreviventes, tendo sido excluídos desta avaliação, os 84 doentes que tiveram diagnóstico depois da morte. A análise global dos doentes mostrou, por exemplo, que a probabilidade de sobreviver a três meses, a um ano e a cinco anos foi, para os co-infectados, respectivamente de 61%, de 39% e de 23% e, para os imunocompetentes, respectivamente de 97%, de 86% e de 73%. O tempo mediano de sobrevivência, foi de 4,6 meses para os co-infectados por VIH e de 91 meses para os imunocompetentes. Os co-infectados por VIH e com TB MR foram os que tiveram o risco mais elevado de morrer, com probabilidade de sobrevivência a três meses de 54%, a um ano de 29%, a cinco anos de 20% e um tempo mediano de sobrevivência de 3,2 meses, enquanto que para os imunocompetentes com TB MR os mesmos indicadores são respectivamente de 95%, de 89%, de 77% e de 113,5 meses. Os melhores tempos medianos de sobrevivência e as melhores probabilidades de sobrevivência, que foram detectadas em todas as análises estatísticas de doentes co-infectados por VIH com TB ER, comparativamente aos co-infectados por VIH com TB MR, foram, uma vez mais interpretadas, como consequência dos factores de enviesamento atrás descritos. Entre imunocompetentes, como referido, o tempo mediano de sobrevivência com TB MR foi



de 113,5 meses, enquanto que com TB ER foi de 74 meses. O pior prognóstico que encontramos em co-infectados por VIH não é de estranhar, tendo em conta a pior adesão ao tratamento, o facto de estarem profundamente imunodeprimidos (valor médio de 82 linfócitos TCD4<sup>+</sup>/μL) e a maioria não estar sob TARV e, ainda, pelo facto da progressão da doença tuberculosa ser mais rápida. Cruzando o tipo de doente, com o tipo de resistência e com a presença ou ausência de TB anterior, incorrectamente tratada, os doentes em maior risco de morte, foram os co-infectados por VIH com TB MR, com e sem história clínica de TB anterior (tempo mediano de sobrevivência respectivamente de 3,2 e 3,3 meses e probabilidades de sobrevivência a um ano, respectivamente de 28,0% e de 30,3%). Os doentes que tiveram maior tempo mediano de sobrevivência, foram os imunocompetentes com TB MR e sem TB anterior (118,7 meses) ou, com TB ER e, de igual modo, sem TB anterior (78,9 meses), com probabilidades de sobrevivência a um ano respectivamente de 88,9% e de 76,9%.

Compararam-se, também, os tempos medianos de sobrevivência e as probabilidades de sobrevivência entre os períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012. Para co-infectados por VIH, o tempo mediano de sobrevivência naqueles períodos, foi, respectivamente de 3,4 meses e de 14,8 meses, enquanto para os imunocompetentes, não foi possível avaliar correctamente esse indicador, porque metade dos doentes ainda sobrevivia. De qualquer forma, nos co-infectados por VIH, a probabilidade de sobrevivência a dois anos, nos períodos de 1993 a 2000 e de 2001 a 2012, foi respectivamente de 21% e de 43% e nos imunocompetentes foi respectivamente de 88% e de 81%. Com diferenças, estatisticamente, significativas, os co-infectados por VIH tiveram uma probabilidade 4,65 vezes maior de morrerem do que os imunocompetentes e o período de 2001-2012 foi protector relativamente ao risco de morte, isto é, no período temporal de 1993-2000 a probabilidade dos doentes morrerem, por TB MR ou TB ER, foi 50% mais elevada do que no período temporal de 2001-2012. Os resultados mostraram, assim, que o insucesso terapêutico e a sobrevida dos doentes co-infectados por VIH com TB MR e TB ER são piores do que nos doentes imunocompetentes e que, para ambos os grupos, o prognóstico melhorou substancialmente após o ano 2000.

#### 6.4. ESTUDO MOLECULAR

Foi feita a caracterização genética de 92 estirpes de *M. tuberculosis* multirresistente ou extensivamente resistente, isoladas de 1993 até 2012, nas culturas, ainda viáveis, de amostras de igual número de doentes. Nos restantes 219 doentes, a genotipagem não foi possível, por não ter havido crescimento da bactéria ou por contaminação da cultura. Assim, não dispusemos em nenhum doente, de mais do que uma genotipagem, nem de genotipagens provenientes de diferentes amostras. Das 92 estirpes isoladas e genotipadas, ao longo desses anos, 52 (56,5%) constituíram um *cluster* predominante e foram identificadas como pertencendo à família Lisboa e 18 (19,6%) constituíram um outro *cluster* aparentado à mesma família, aqui denominado de *cluster* B (estirpes B). Estes dois *clusters* muito semelhantes (homologia acima de 85%), fazendo admitir que tiveram um ancestral comum, já tinham sido identificados entre 1992 e 1994<sup>171</sup> e entre 1996 e 1997,<sup>227,245,331</sup> em doentes provenientes de 14 hospitais de Lisboa, a maioria deles residentes na área metropolitana de Lisboa e de classe social baixa e média baixa (classificação social de Graffar),<sup>332</sup> co-infectados por VIH, toxicodependentes e com má adesão ao tratamento da TB sensível<sup>227,228,245,331</sup> e, foram de novo identificados no nosso estudo, desde 1993. As restantes 22 (23,9%) estirpes caracterizadas, apresentavam um padrão genotípico único e foram designadas por “outras”, sendo também identificadas de 1993 até 2012. A epidemiologia molecular tem sido usada, para identificar a MR como um factor de risco para a ocorrência de *clusters*<sup>333,334</sup> e a identificação de *clusters* sugere transmissão ou disseminação recentes de TB e provável ligação epidemiológica entre doentes, conforme demonstrado por exemplo em estudos realizados nos EUA,<sup>18,19,116</sup> independentemente da presença ou ausência de resistência primária.<sup>18,106</sup>

Das 92 estirpes que foram estudadas, 50 foram isoladas de 1993 a 1996 e 42 foram identificadas de 1997 a 2012. No primeiro destes períodos, 34 eram estirpes designadas por Lisboa e sete eram estirpes B. No segundo período, 18 eram estirpes Lisboa e 11 eram estirpes B. Apesar do polimorfismo encontrado, foram estes dois *clusters*, aparentemente relacionados, que prevaleceram durante todos os anos do estudo, representando 76,1% de todas as estirpes caracterizadas, com maior prevalência nos anos de 1995 e de 1996.

Verificou-se que, em cada *cluster* (estirpes Lisboa ou estirpes B), o padrão de resistências diferiu, mas que houve um padrão predominante, de acordo com a estirpe (INH, RMP, EMB, SM ou INH, RMP, SM na estirpe Lisboa e, INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX ou INH, RMP, EMB, SM e INH, RMP, SM na estirpe B). Tal como mencionado noutros estudos,<sup>176,227,245</sup> não se pode estabelecer uma correlação entre os padrões genéticos e os fenótipos de resistência aos antibacilares, porque podem variar conforme o momento do isolamento e do teste de sensibilidade, mas, de qualquer forma, os padrões de resistência mais prevalentes, na estirpe Lisboa, coincidiram com os mais vezes identificados por Portugal e colaboradores, em 1996 e 1997<sup>227,245</sup> em doentes co-infectados por VIH com má adesão ao tratamento e, com os mais vezes observados ao longo deste estudo, quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes com TB MR. O padrão de resistências, mais vezes associado à estirpe B, coincidiu, também, com aquele que mais vezes foi identificado, até 2012, em imunocompetentes com TB ER. Assinale-se, ainda, que entre 2001 e 2011, três das estirpes Lisboa (em dois doentes co-infectados por VIH, com história, no passado, de TB sensível incorrectamente tratada e, num imunocompetente, sem TB anterior ao diagnóstico) e uma estirpe B (em co-infectado por VIH, sem TB anterior) eram resistentes a todas as classes de antituberculosos testadas, sendo classificadas como de TB TR, o que indica, que estas estirpes têm vindo a acumular resistências e a disseminar-se na comunidade.

A caracterização epidemiológica e clínica das estirpes mostrou, com diferenças estatisticamente, significativas, que as denominadas Lisboa foram as mais prevalentes em co-infectados por VIH, independentemente de se tratarem de doentes, com ou sem história de TB anterior, e que, em imunocompetentes, foram, de igual modo, frequentes, as estirpes Lisboa, as estirpes B e “outras”. As estirpes Lisboa foram tão frequentes em doentes com TB no passado, como em doentes sem TB anterior, enquanto as estirpes B foram mais frequentes em doentes sem história de TB anterior. É possível que a estirpe Lisboa e a estirpe B ou, apenas a estirpe Lisboa, em particular nos primeiros anos da epidemia (1993 a 1996), em que predominavam os doentes co-infectados por VIH, toxicodependentes e não aderentes ao tratamento, se tivessem espalhado neste grupo populacional e, de seguida, pudessem ter sido transmitidas a outros co-infectados por VIH e a imunocompetentes quer em ambiente nosocomial,

quer na comunidade. Tal foi documentado, de 1994 a 1997, em vários estudos.<sup>227,228,245</sup>

Entre as diferentes estirpes de *M. tuberculosis* não se detectaram diferenças na apresentação clínica, já que a maioria dos doentes tinha TB pulmonar, no entanto, nos infectados pela estirpe Lisboa, existiu uma menor prevalência de primeiro exame directo da expectoração negativo, o que poderá significar que se associa a maiores cargas bacilares e, de igual modo, um maior tempo de doença não diagnosticada, o que, permitiu, aos doentes com maior prevalência de infecção por esta estirpe, (co-infectados por VIH) maior intervalo de tempo para a disseminação da TB. Ainda, por outro lado, houve menores taxas de cura em infectados pela estirpe Lisboa (21,7%) e pela estirpe B (25%), do que em infectados por “outras” estirpes (42,9%) e, portanto, enquanto sobreviveram, houve maior probabilidade de permanecerem bacilíferos e de, potencialmente, serem mais disseminadores da infecção. O tempo mediano de sobrevivência (tempo mediano entre a data do diagnóstico e a data da morte), foi de 7,1 meses para os infectados pela estirpe Lisboa, de 6,2 meses para os infectados pela estirpe B e de 51,1 meses para os infectados por “outras” estirpes. Aos dois anos, a probabilidade do doente infectado pela estirpe Lisboa estar vivo, foi de 37,4%, do infectado por estirpe B, foi de 46,7% e, do infectado por “outras” estirpes, foi de 66,7%. Se, por um lado, a menor sobrevida dos doentes infectados pela estirpe Lisboa ou pela estirpe B significa uma grande agressividade ou patogenicidade destas estirpes, com rápida progressão para a morte, por outro, o tempo mediano de sobrevivência (ainda assim de vários meses), a probabilidade de sobrevivência (37 a 46% aos dois anos) e as baixas taxas de cura a elas associadas, justificam o facto de se continuarem a transmitir activamente na comunidade e de serem detectadas e de prevalecerem 20 anos depois. Estas taxas de cura e de sobrevida são idênticas às que se descreveram com outras estirpes de *M. tuberculosis* multirresistente nos anos 80 e 90,<sup>52,110,111,114-116,335,336</sup> em outras regiões do Mundo, como por exemplo nos EUA, também elas caracterizadas por elevada mortalidade e rapidez de progressão como a estirpe W da família Beijing.<sup>65,110,111,115,116</sup> Por outro lado, ainda, para as melhores taxas de cura e para a maior probabilidade de sobrevivência, que se verificaram em imunocompetentes, poderá contribuir o facto de estarem infectados, em maior número, pelas estirpes de padrão único. Finalmente, é de referir que não se encontrou

nenhuma relação entre a infecção por diferentes estirpes e, uma maior ou menor predisposição para casos de toxicidade medicamentosa.

Entre as estirpes designadas por “outras”, foram identificadas duas estirpes Beijing. A primeira dessas estirpes foi identificada em 2009, na cultura da expectoração de um doente do sexo masculino, de 56 anos, natural e sempre residente em Angola, imunocompetente, com história no passado de TB sensível, incorrectamente tratada em 2007 e agora com TB MR de localização pulmonar, com padrão de resistência à INH, RIF e ETO, o qual foi tratado e curado. Nunca havendo residido em Portugal, admite-se que a estirpe tivesse sido importada do País onde vivia. A segunda estirpe foi identificada em 2010, na cultura da expectoração de um doente de 35 anos, ucraniano, residente em Portugal desde há 10 anos, co-infectado por VIH, sem história de TB anterior e a quem foi diagnosticada TB miliar. Esta última estirpe apresentava resistência à INH, RIF, EMB, SM, PZA, ETO, KM e AM e o doente apesar de medicado, não se curou, falecendo em resultado da TB. Não foi estabelecida qualquer ligação epidemiológica com o caso anterior, sendo provável, também, que a estirpe tivesse sido importada para o nosso País. A família Beijing, identificada nos anos 90, é originária da China,<sup>109</sup> mas está disseminada a todo o Mundo, com prevalências na Ásia, na Europa, na África e na América respectivamente de 44,7%, de 27,9%, de 12,5% e de 8,9%,<sup>109,113,337</sup> estando 81,6% das estirpes associadas à resistência (com as maiores taxas a ocorrerem na China e na Rússia)<sup>337</sup> e à indução de formas mais graves de TB e de maior número de falências terapêuticas, do que as outras.<sup>110,111,337-341</sup> Apesar de não haver, ainda, evidência da disseminação de estirpes Beijing em Portugal (estudos epidemiológicos ou genotípicos), estes casos clínicos são indicativos de que, regular ou irregularmente, entram no nosso meio estirpes provenientes de outras áreas geográficas, que se poderão vir a disseminar e a tornar prevalentes e, inclusivé, a agravar a evolução e o prognóstico da nossa epidemia. Mais recentemente (2013 e 2014), identificámos, entre os nossos doentes, mais três estirpes Beijing<sup>342</sup> e uma estirpe Delhi-CAS (estirpe prevalente na Índia e Ásia Central),<sup>343,344</sup> o que sugere aquela possibilidade e é indicador de alguma instabilidade epidemiológica.

## 6.5. EPIDEMIA NOSOCOMIAL DE 1995 e 1996

Durante os anos de 1995 e 1996, estiveram internados 99 doentes (98 com TB MR e um com TB ER), dos quais 88 eram co-infectados por VIH e 11 eram imunocompetentes, estando disponível, para análise, a evolução de 86 deles (80 co-infectados por VIH e seis imunocompetentes). A taxa de cura nos co-infectados por VIH foi de 10% e nos imunocompetentes foi de 83,3%. Esta diferença, que foi, estatisticamente, significativa, é claramente indicadora do pior prognóstico dos co-infectados por VIH, os quais, nesses anos, prevaleciam entre os doentes internados. Entre os 80 co-infectados por VIH, 27 tinham história no passado de TB sensível incorrectamente tratada e 53 não tinham história de TB anterior e as taxas de cura foram respectivamente de 7,4% (dois doentes) e de 11,3% (seis doentes). Entre os seis imunocompetentes, um tinha história no passado de TB sensível, incorrectamente tratada e cinco não tinham história de TB anterior e as taxas de cura foram, respectivamente, de 100% (mas apenas um doente) e de 80% (apenas quatro doentes). Assim, constatou-se, que no total quer fossem co-infectados, quer fossem imunocompetentes foi maior a percentagem de curados entre os doentes sem história de TB anterior. Observou-se, ainda, que independentemente de se tratarem de doentes, com ou sem história de TB anterior, incorrectamente tratada, o padrão de resistências dominante, naqueles dois anos de maior incidência de TB MR quer em co-infectados, quer em imunocompetentes, foi o de resistência à INH, RMP, EMB e SM, o qual seria, também, o padrão predominante nos anos seguintes do estudo e até 2012. Nestes dois anos, em que os doentes tiveram, na maioria dos casos TB MR primária, só pudemos caracterizar geneticamente 43 estirpes (21 em 95 e 22 em 96), das quais 42 eram provenientes de doentes co-infectados por VIH e, apenas, uma, de doente imunocompetente. Vinte e nove (67,4%) eram estirpes Lisboa, seis (14%) eram estirpes B e em oito o padrão era único (uma delas pertencente ao doente imunocompetente). Tal como para as estirpes que foram caracterizadas nos anos seguintes, o maior tempo mediano de doença não diagnosticada, também diferenciou, em 1995 e 1996, a estirpe Lisboa (66 dias vs 50 dias para a estirpe B e de 61,5 dias para as “outras” estirpes). Apesar de se tratar de uma amostra reduzida e de não haver diferenças, estatisticamente, significativas, as taxas de cura, durante estes dois anos, foram de 4%

para a estirpe Lisboa, de 0% para a estirpe B e de 14,3 % para “outras” estirpes e a probabilidade de sobreviver aos seis meses nos infectados pela estirpe Lisboa foi de 28,6%, nos infectados pela estirpe B foi de 20% e nos infectados por “outras” estirpes foi de 40%. Estas características, são uma vez mais, semelhantes às que se verificaram com as mesmas estirpes até 2012 e são compatíveis com a maior virulência destes dois *clusters* com homologia acima de 85%, sugerindo que a infecção a eles associada, comparativamente a “outras” estirpes, tem pior prognóstico. Nos EUA de 1990 a 1992, o CDC investigou, também, oito epidemias de TB MR em hospitais americanos,<sup>52-54,60,61,132,345</sup> encontrando entre mais de 300 doentes, 87% de co-infectados por VIH e constatando, de igual modo, uma evolução caracterizada por rápida progressão da doença e elevada taxa de mortalidade.

O padrão de resistência à INH, RMP, EMB e SM (o mais prevalente ao longo de todos os anos de estudo) foi o mais frequente na estirpe Lisboa (em 55,2% dos casos) e juntamente com o padrão de resistência à INH, RMP e SM foram os mais frequentes na estirpe B (em 66,6% dos casos), enquanto outros padrões foram mais prevalentes nos doentes infectados por “outras” estirpes. Portanto, estes são os padrões de resistência mais característicos nestes dois *clusters* e os mais característicos dos doentes com TB MR em Lisboa.

Em 1995 e 1996, não estavam, ainda, instaladas no Serviço de Doenças Infecciosas do HCC, quaisquer das medidas recomendadas para a prevenção da transmissão nosocomial de TB<sup>57,346-355</sup> e a livre circulação de doentes no internamento e no ambulatório facilitava a transmissão da micobactéria. A maioria dos doentes era toxicodependente, com infecção por VIH, altamente susceptível à infecção, requerendo frequentes hospitalizações. Durante estes dois anos, que foram os de maior prevalência de TB MR, a maioria teve resistência primária e, pelo menos, 20% dos doentes tinha registo de internamento por outros motivos clínicos. A convivência temporal, no Serviço, da maioria deles (Hospital de Dia, consulta, enfermaria), o facto dos surtos nosocomiais entre co-infectados por VIH progredirem, rapidamente, da infecção recente para a doença<sup>23,116</sup> e a sobreposição, em muitos casos, dos padrões de resistência, levantou a suspeita de transmissão nosocomial. A hipótese admitida, de poder estar a ocorrer uma epidemia nosocomial e de, tal como descrito por outros, poder haver doentes com TB sensível, que eram reinfectados por uma segunda estirpe

de *M. tuberculosis* multirresistente,<sup>238,356,357</sup> seria documentada por genotipagem e por estudo epidemiológico.<sup>102,118,126,128,129,182,358-360</sup> De facto, um doente co-infectado por VIH, a quem fora diagnosticada TB sensível aos antituberculosos de 1ª linha, em Setembro de 1994, e que era acompanhado no Serviço, emigrou para Londres, onde, em Abril de 1995, lhe foi diagnosticada TB MR, num hospital local. A caracterização molecular por RFLP-IS6110 foi feita em todos os isolados de *M. tuberculosis* deste caso índice, em oito doentes ingleses seropositivos para VIH, que entretanto contactaram o doente naquela cidade e, ainda, em 16 estirpes de *M. tuberculosis* multirresistente, de igual número de doentes, do Serviço, em Lisboa. A análise de *DNA fingerprinting* identificou duas estirpes geneticamente distintas de *M. tuberculosis* no caso índice, indicando que o doente adquiriu uma segunda infecção com uma estirpe multirresistente. Todas as estirpes de TB MR dos oito doentes infectados de Londres e de seis dos doentes de Lisboa eram indistinguíveis, demonstrando-se que foi em Portugal, que adquiriu a segunda estirpe. A estirpe daquele doente (identificada como estirpe B), revelava uma larga epidemia de TB MR que decorria em Lisboa, e a continuação do estudo mostraria que circulavam entre os doentes dois *clusters* de estirpes de TB MR diferentes, mas geneticamente relacionados (identificados como pertencendo à família Lisboa), sugerindo a existência de dois surtos epidémicos simultâneos entre nós.<sup>126</sup> Nesta epidemia, em que a percentagem de doentes não curados foi muito superior para os co-infectados por VIH (90,0% vs 16,7% em imunocompetentes) e que se caracterizou por grande rapidez de progressão e elevada taxa de mortalidade, demonstrou-se, a partir de um doente co-infectado por VIH, a transmissão primária quer a outros co-infectados por VIH, quer a imunocompetentes, com possível passagem para a comunidade.<sup>102,129,182</sup> Por estes anos o CDC de Atlanta reportava um grande número de epidemias hospitalares e institucionais nos EUA, nas quais a TB MR se espalhava entre doentes e profissionais de saúde, resultando em elevada mortalidade.<sup>53,60-65,132,361</sup> O mesmo era relatado no sul da Europa<sup>59,66-68,70,71,274,362</sup> e em todo o Mundo Ocidental.<sup>58,102,296</sup>

Dos 99 doentes internados em 1995 e 1996, só caracterizámos geneticamente 43 estirpes, 29 (67,4%) eram estirpes Lisboa e seis eram estirpes B (14,0%), ambas prevalentes, mas admite-se que, nesses anos, tivessem afectado um número muito mais elevado de doentes, porque num outro estudo efectuado no Hospital, em Lisboa,



nos mesmos anos,<sup>363</sup> embora sem genotipagem, entre 140 estirpes estudadas, detectou-se 37% de estirpes multirresistentes e o padrão mais frequente foi, de igual modo, o de resistência concomitante à INH, à RMP e à SM (presente em 29% das estirpes) e também, porque nas mesmas datas, estes dois *clusters* foram identificados, simultaneamente, em vários doentes co-infectados por VIH, de diversos hospitais de Lisboa.<sup>227</sup> O estudo por nós realizado, demonstra a existência de estirpes idênticas, desde 1993, em alguns dos doentes, ficando, assim, por determinar qual terá sido o verdadeiro caso índice e o ano de origem desta epidemia nosocomial. Por outro lado, sugere, tendo em conta a elevada prevalência de co-infectados por VIH, naqueles anos, que eles tenham sido a fonte de difusão da epidemia de Lisboa, transmitindo a infecção a outros co-infectados e a imunocompetentes. Em Nova Iorque, nos anos 90, os surtos nosocomiais de TB MR, foram seguidos de elevadas taxas de resistência na população em geral.<sup>115</sup> O elevado nível de resistências, que foi identificado neste estudo, é o resultado destas estirpes circularem e disseminarem-se há mais de 20 anos.



## 7. CONCLUSÕES

Com um grupo de 311 doentes (237 infectados por VIH e 74 imunocompetentes), representativo da região de Lisboa, em que foi estabelecido o diagnóstico de TB MR ou de TB ER entre os anos de 1993 e 2012, é possível perceber que a incidência média anual conjunta de TB MR e de TB ER nesta área é elevada (11,2%), superior à reportada pelas autoridades de saúde, para o mesmo período, em Portugal e que, embora com tendência nos últimos anos para diminuir, estabilizou num valor (3%), que persistia, em 2012, mais elevado do que no resto do País e próximo do valor médio de 5% que se apontava para a União Europeia.<sup>83</sup> A sua prevalência, entre a totalidade de doentes com TB, é bastante elevada (12,7% na nossa casuística).

Verifica-se, que a TB MR e a TB ER na região de Lisboa é mais frequente em doentes do sexo masculino (85,2% dos casos), em caucasianos (86,2% dos casos) e em idades mais jovens (média de 37 anos) do que a TB sensível (média de 46 a 48 anos).<sup>184</sup> Ela afectou, sobretudo nos anos 90, no início da epidemia, indivíduos provenientes de áreas da cidade problemáticas e de grupos sociais desfavorecidos, que estiveram ligados à toxicodependência, às relações sexuais de risco e à infecção por VIH e, ainda, que por vezes eram sem abrigo. Em consequência, a co-infecção por VIH, particularmente, em associação com a toxicodependência (68,3% dos co-infectados são toxicodependentes), foram as principais responsáveis pela magnitude desta epidemia de TB MR e de TB ER em Lisboa, com um papel, particularmente, relevante naquele período, em que representaram o principal grupo de doentes e, que foi, decisivo na disseminação da doença.

Os co-infectados por VIH, concentrados na região metropolitana de Lisboa e que têm maior probabilidade de resistência adquirida, maior risco de reactivação, de reinfeção e de transmissão da TB, foram, de 1993 a 2012, o principal grupo de doentes afectados pela TB MR e pela TB ER (76,2% dos casos), com uma incidência média anual de 13,2%, comparativamente a 8,7% em imunocompetentes. No entanto, apesar disso, os valores anuais diminuíram depois de 1996, observando-se, mesmo, nos últimos anos (2006 a 2011), uma incidência semelhante e um número de novos casos igual ou maior em imunocompetentes.

As taxas de transmissão de TB MR e de TB ER entre imunocompetentes (em que há maior percentagem de doentes mais idosos, do sexo feminino, de não caucasianos e de imigrantes) são, hoje, no mínimo, idênticas às que se verificam entre os doentes co-infectados por VIH. Estas formas de TB aparecem no distrito de Lisboa (89,4% dos doentes deste estudo) e na área metropolitana, em particular (onde residem cerca de 59,2% deles), com carácter endémico, sem estarem limitadas a factores de risco, como a infecção por VIH, envolvendo, na maioria, doentes sem história de TB anterior e de grupos etários jovens, o que faz supor infecção primária e um elevado potencial de transmissão na comunidade.

Em Lisboa, também, a maioria dos casos de TB MR ou de TB ER ocorre em doentes de nacionalidade portuguesa (80,7%), mas a proporção de imigrantes (19,1%), sobretudo africanos (um grupo populacional igualmente com grande concentração na região metropolitana de Lisboa), que é afectada por estas formas de TB, é superior à proporção de imigrantes que se descreve com TB sensível em Portugal. O facto de ser maior a proporção de imigrantes com TB MR ou TB ER do que com TB sensível e de serem, sobretudo, doentes imunocompetentes, pode indicar, por si só, que a MR neste grupo, é mais vezes primária. Por este motivo, não é possível, também, excluir, que os imigrantes, no passado ou no presente, tenham introduzido e transmitido estirpes de *M. tuberculosis* na cidade ou no País, que contribuam para as dimensões da epidemia. Apesar de não se dispor das genotipagens de todos os doentes, o estudo epidemiológico, a sobreposição verificada dos padrões de resistência e o facto da maioria de casos de TB MR e de TB ER ocorrer em doentes sem história de tratamento prévio para TB sensível ou que tiveram TB sensível tratada e curada muitos anos antes, sugere, que a TB MR e a TB ER em Lisboa é, na maioria dos casos, primária (60,7% dos casos), resultando de infecção ou de reinfecção recentes e de transmissão na comunidade e não de TB secundária/adquirida, em consequência de incumprimento da terapêutica. De qualquer forma, a elevada percentagem de doentes com TB MR a quem lhes foi prescrito o tratamento para TB sensível e que não o cumpriram correctamente, aponta para a necessidade de intervenções, que minimizem o risco desta ocorrência. Uma história clínica compatível com TB MR adquirida ou secundária ou seja, por TB incorrectamente tratada por má adesão ao tratamento, foi mais frequente em co-infectados por VIH, sobretudo nos primeiros anos da epidemia, em

que estiveram na origem da TB MR e da sua disseminação quer a outros co-infectados, quer a doentes imunocompetentes, como se demonstrou na epidemia nosocomial que ocorreu, como referido, de 1995 a 1996 e conforme foi, também, relatado, nesses anos, na comunidade. Naquele período, por genotipagem foi documentada a transmissão de estirpes, a reinfecção por estirpes diferentes e a existência de doentes co-infectados por estirpes distintas. Depois de 2000, a proporção de casos de TB MR primária tornou-se, gradualmente, de maior dimensão, bem como a proporção de doentes imunocompetentes, que se apresentaram com esta forma de TB, o que aponta para o facto de que a epidemia está a crescer em Lisboa, a transmitir-se, activamente, na comunidade e a generalizar-se entre a população. Já em dois estudos de vigilância laboratorial das resistências aos antibacilares em Portugal, realizados de 2000 a 2001 <sup>248</sup> e de 2000 a 2003, <sup>249</sup> em que se encontraram taxas de TB MR primária e adquirida, respectivamente de 2,8% e 13,3% e de 2,3% e 6,3 %, se verificava, que comparativamente à década de 90, a resistência parecia diminuir nos casos com tratamento anterior, mas parecia crescer ligeiramente a TB MR primária, com particular expressão nos distritos de Lisboa e de Setúbal. <sup>249</sup>

Se a população de Lisboa, tem este alto nível de transmissão e de reinfecção, provavelmente, será menos sensível às intervenções para controlo da TB, devido às baixas taxas de cura da TB MR e porque os que foram tratados continuarão em risco de reinfecção por outras estirpes. A resistência adquirida, por outro lado, continua a alimentar a epidemia de TB MR e novos casos continuarão aparecer, pelo que a sua eliminação é, de igual modo, um desafio enorme, que requer um programa eficaz de luta contra a TB e de educação para a saúde, já que a eficácia do tratamento continuará a ser baixa e o risco de reinfecção, por outras estirpes, continuará, também, a ser elevado.

Tal como acontece na TB sensível, a TB pulmonar é a forma mais frequente de apresentação clínica da TB MR e da TB ER quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes e quando há envolvimento extrapulmonar concomitante ela é mais frequente em co-infectados por VIH. Todavia, a TB extrapulmonar (sem envolvimento pulmonar) é mais prevalente em imunocompetentes. Na TB pulmonar, com envolvimento extrapulmonar simultâneo, a forma miliar é a mais frequente em ambos os grupos. Na TB exclusivamente extrapulmonar, é a TB renal a mais frequente,

mas em comparação à TB sensível, é menor a ocorrência de TB pleural em co-infectados por VIH e menor a ocorrência de TB pericárdica e peritoneal em imunocompetentes.

Na TB MR e TB ER mantém-se a apresentação clínica menos habitual entre co-infectados por VIH e a apresentação mais clássica em imunocompetentes, tal como se descreve na TB sensível aos antituberculosos, pelo que, nos primeiros, continua a ser maior a dificuldade de diagnóstico. Apesar de alguma especificidade das formas extrapulmonares em imunocompetentes, não se encontram aspectos clínicos ou semiológicos que permitam suspeitar da presença de TB MR ou de TB ER. Entre os co-infectados por VIH, com TB MR ou TB ER, não se encontram, também, quaisquer características clínicas ou outras que ajudem a distinguir, se o tipo de vírus envolvido é VIH-1 ou VIH-2, embora esta afirmação esteja baseada numa amostra de doentes muito pequena.

Ao contrário do que acontece na TB sensível, a radiografia de tórax no doente com TB pulmonar MR e ER, não ajuda a diferenciar co-infectados por VIH de imunocompetentes. A cavitação é mais frequente em imunocompetentes, o derrame pleural é mais frequente em co-infectados, mas o infiltrado bilateral (micronodular, nodular, alveolar ou intersticial) é o padrão mais frequente em ambos os grupos e a radiografia normal ocorre, também, em percentagens idênticas. Estes dois padrões não ajudam a um diagnóstico mais precoce e a sua ocorrência, em particular entre imunocompetentes, é sugestiva de que a maioria dos casos resulta de infecção primária.

Os padrões radiográficos mais frequentes na TAC torácica, são sobreponíveis aos da radiografia (infiltrado bilateral) e, também, não distinguem os dois grupos de doentes. A TAC mostra, ainda, que as bronquiectasias são mais frequentes em imunocompetentes, que o derrame pericárdico e as adenopatias necrosadas hilares e mediastínicas são mais frequentes em co-infectados e que o padrão miliar ocorre, com frequência semelhante, nos dois grupos, não se encontrando, de igual modo, aspectos radiológicos que façam suspeitar de TB MR. No conjunto, os padrões radiográficos mais prevalentes são, também, mais sugestivos de TB primária. Na TB MR e na TB ER, tal como na TB sensível, as linfadenopatias intra-abdominais necrosadas e a hepatoesplenomegalia são mais frequentes em co-infectados por VIH.

Assim, comparativamente à TB sensível, na TB MR e na TB ER as diferenças de apresentação clínica entre imunocompetentes e co-infectados por VIH mantêm-se e as diferenças radiológicas esbatem-se, mas, no conjunto, os aspectos encontrados não permitem suspeitar do diagnóstico. A suspeita de TB MR ou de TB ER assenta, na maioria das vezes, na má resposta à terapêutica instituída e na pior evolução.

Nos co-infectados por VIH com TB MR ou ER pulmonar o primeiro exame directo da expectoração é negativo em 58,4% dos casos e em 47% destes é sempre negativo, enquanto que nos imunocompetentes, os mesmos valores são, respectivamente, de 19,7% e de 61,5%. Portanto, em ambos os grupos de doentes, o diagnóstico está dificultado, não só pela inespecificidade da apresentação clínica e radiológica, mas também, pela negatividade do exame directo da expectoração, a qual atrasa o diagnóstico de forma muito mais significativa em co-infectados por VIH e pode influenciar o seu prognóstico. Com exame directo da expectoração negativo ou positivo e, comparando os dois grupos de doentes, a carga bacilar dos co-infectados por VIH é maior do que a dos imunocompetentes, pelo que numa e noutra circunstância, os co-infectados são, potencialmente, mais infecciosos e mais capazes de transmitir e de disseminar a infecção. A identificação do bacilo por exame directo, ou da bactéria por exame cultural, em diferentes tecidos ou fluidos do organismo, ocorre em maior número de locais nos co-infectados por VIH, o que, dependendo do local de identificação e de isolamento e, da existência, ou não, de manobras indutoras de aerossóis (por exemplo, irrigação de abscesso fistulizado), pode potenciar, igualmente, a sua capacidade para transmitir a infecção.

As taxas de resistências nas estirpes de *M. tuberculosis* que circulam entre os doentes deste estudo, são muito superiores às referidas pelas autoridades de saúde portuguesas. Existe uma elevada taxa de resistência individual aos antituberculosos de 1ª linha (superior a 60% para qualquer dos fármacos testados), que é maior entre os indivíduos imunocompetentes, que são os que mais vezes não têm história de TB no passado, sugerindo, que neles, estas resistências resultaram mais vezes de transmissão na comunidade, correspondendo a TB primária. De igual modo, se constata uma elevada taxa de resistência individual aos injectáveis de 2ª linha (superior a 48% para qualquer dos fármacos testados) e às quinolonas (superior a 60% para qualquer delas), que é maior em co-infectados por VIH, o que se explica pelo maior número de doentes

neste grupo, com história no passado de TB sensível que foi incorrectamente tratada ou que têm má adesão ao tratamento da TB MR, com risco de a transmitir na comunidade, já como TB ER. O estudo mostrou, também, que a probabilidade de uma estirpe de *M. tuberculosis* se revelar sensível à ETO é de 16%, à CFZ de 36%, à RFB de 50%, à CS de 61% e ao PAS de 63%, restando como opção mais válida, por menor taxa de resistências, o LZD. No conjunto, a prevalência de resistências aos antituberculosos de 1ª e de 2ª linhas, entre os doentes deste estudo, compromete o êxito terapêutico da TB MR e da TB ER, sendo, por isso, uma ameaça à Saúde Pública e ao controlo da TB e indicia a evolução para a TB TR e para a sua disseminação, a qual já está a ser revelada, conforme aqui é demonstrado. Entre os doentes de Lisboa, identifica-se um padrão de resistências típico da TB MR (resistência à INH, RMP, EMB e SM) que é frequente e comum em co-infectados por VIH e em imunocompetentes, quer tenham tido ou não TB no passado, sugerindo que há transmissão activa entre os dois grupos de doentes e, provavelmente, de co-infectados para imunocompetentes, já que entre estes é maior o número dos que nunca tiveram anteriormente TB. Em doentes com TB ER e história de TB no passado, o padrão de resistência simultânea à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX e PAS foi o mais frequente em co-infectados e nenhum se destacou em imunocompetentes. Em doentes com TB ER, mas sem história de TB no passado, o padrão mais frequente quer em co-infectados, quer em imunocompetentes foi o de resistência à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX e OFX. Estes padrões de resistência encontrados na TB ER sugerem, também, a transmissão entre doentes com e sem história de TB no passado e, uma vez mais, de co-infectados por VIH para imunocompetentes. No conjunto, os padrões de resistência encontrados em doentes co-infectados por VIH e em imunocompetentes com TB MR e TB ER sugerem, que os primeiros foram o ponto de partida para a disseminação da infecção na comunidade e para a transmissão a imunocompetentes.

Pelo nível de resistências que foi encontrado e pelos perfis de resistência que foram predominantes quer em co-infectados por VIH, quer em imunocompetentes, este estudo pouco ajuda para a recomendação de um tratamento empírico base, em caso de suspeita de TB MR e de TB ER e que, assim, possa contribuir para melhorar a eficácia do tratamento. Contudo, a elevada prevalência de resistências à SM e ao EMB sugere que se deverão excluir estes fármacos do tratamento empírico da TB MR. Por



outro lado, a CS e o PAS serão melhores opções que a ETO, no tratamento empírico da TB MR e deverão ser considerados juntamente com o LZD, como opções de primeira escolha a incluir no tratamento da TB ER, antes de se conhecer o antibiograma. Porém, deve salientar-se que os três fármacos são bacteriostáticos e estão associados a importante toxicidade.<sup>364-368</sup> Os padrões de resistência da TB ER que são predominantes, preconizam a eminência da TB TR e fazem supor pouca probabilidade de sucesso terapêutico, no entanto, um esquema terapêutico empírico que incluía aqueles três, poderá garantir maior eficácia. Dos dados epidemiológicos obtidos, conclui-se que a instituição da terapêutica deve ser planeada tendo em conta, apenas, a elevada probabilidade de se estar perante um doente com resistências. O sexo, a raça ou a nacionalidade não são factores de peso nessa decisão.

Este estudo clarifica a importância do atraso no diagnóstico, para a disseminação da TB MR e da TB ER em Lisboa. Em 50% dos casos de TB MR e de TB ER há influência das decisões médicas, por não se admitir atempadamente o diagnóstico de TB e em 50% dos casos há responsabilidade dos doentes (co-infectados e imunocompetentes), por se atrasarem nas diligências para encontrarem assistência médica. Para ambos os grupos de doentes, há insuficiente educação para a saúde, que reflecte estigma, deficiente acesso aos cuidados assistenciais e baixa condição social. Qualquer das circunstâncias contribui para atraso no diagnóstico, favorece a transmissão na comunidade e influencia a evolução e o prognóstico da doença.

Nos co-infectados por VIH, a TB MR ou ER ocorre em fases avançadas da doença (valor médio de linfócitos TCD4<sup>+</sup> de 82 células/ $\mu$ L) e em cerca de 63,7% após outras infecções oportunistas, reforçando a suspeita de se tratarem de casos de infecção recente e, em consequência, de TB primária.

Para além da influência dos médicos e dos doentes na demora no diagnóstico, detectam-se quer para co-infectados por VIH, quer para imunocompetentes, longos tempos de doença não diagnosticada, por atrasos significativos na informação dos resultados microbiológicos, que favorecem os tratamentos presuntivos incorrectos e a acumulação de resistências, que comprometem o sucesso terapêutico, que favorecem a infecciosidade prolongada e a disseminação da doença e que agravam o prognóstico, permitindo, inclusivé, que alguns doentes morram, antes de serem tratados

correctamente, sobretudo co-infectados por VIH, os quais, devido à sua imunodeficiência, têm uma progressão mais rápida da doença. Por exemplo, o tempo médio entre a data do internamento de um doente com TB MR e o início do seu tratamento correcto, foi de 45 dias em co-infectados por VIH e de 32 dias em imunocompetentes, uma diferença, que pode justificar, para aqueles, um pior prognóstico. Neste estudo, o tempo mediano de doença não diagnosticada (tempo entre o aparecimento dos sintomas e o diagnóstico) foi de 78 dias em co-infectados e de 76 dias em imunocompetentes.

Por apresentarem uma história no passado de TB sensível aos antituberculosos, incorrectamente tratada ou por não ter havido resposta à terapêutica, entretanto instituída, 89,7% dos doentes iniciaram tratamento presuntivo para TB MR, no início ou no decurso da doença (sem conhecimento do teste de sensibilidade e potencialmente incorrecta) e, por isso, o insucesso terapêutico não pode ser atribuído à insensibilidade clínica para a suspeição do diagnóstico, mas sim ao atraso na disponibilização dos resultados microbiológicos e, em consequência, no início do tratamento correcto. Como se sabe, o início do tratamento correcto precocemente é crucial para o tratamento eficaz da TB MR. O atraso no diagnóstico da TB MR resulta em doença crónica, em destruição progressiva do parênquima envolvido, em altas cargas bacilares e em transmissão continuada e cria as condições necessárias à ocorrência de epidemias, sobretudo, em comunidades com alta prevalência de infecção por VIH. Os métodos de diagnóstico rápidos têm que estar disponíveis, de uma forma generalizada. Eles poderão ter ajudado nos nossos melhores resultados depois de 2000. Os atrasos no diagnóstico contribuem, decisivamente, para os maus resultados terapêuticos e para a elevada mortalidade.

A má adesão à terapêutica é mais frequente em co-infectados por VIH do que em imunocompetentes. Dezassete e meio por cento dos co-infectados com TB MR e 37,5% dos que têm TB ER têm má adesão, enquanto que em imunocompetentes a má adesão é, respectivamente, de 10,3% e de 15%. Em consequência da pior adesão ao tratamento, os co-infectados por VIH são sujeitos a maior número de regimes terapêuticos, o que favorece maior acumulação de resistências. A má adesão predispõe para a falência terapêutica e para a infecciosidade e transmissibilidade mantidas. Por ser pequena a amostra, não se conseguiu estabelecer uma relação

directa da adesão com as taxas de cura, embora a taxa de cura em doentes com boa ou com má adesão seja, sempre, mais elevada para imunocompetentes. Quer na boa adesão, quer na má adesão ao tratamento a percentagem de casos de toxicidade, em doentes co-infectados por VIH e em doentes imunocompetentes, é semelhante, não se confirmando uma predisposição particular dos co-infectados à toxicidade dos fármacos,<sup>369-372</sup> apesar da percentagem elevada de co-infecção por VHC e VHB e de 57,1% estar sob TARV. A toxicidade da terapêutica é responsável por 60,4% dos casos de má adesão que ocorre em doentes co-infectados e imunocompetentes, não existindo diferenças, no que diz respeito à tolerância, entre os imunodeprimidos e os imunocompetentes, contudo, há mais casos de má adesão entre co-infectados por VIH, pelo que, neste grupo de doentes, ela resulta também de uma questão comportamental. A influência da toxicidade dos antituberculosos na adesão à terapêutica nunca fora avaliada.

A taxa de cura dos doentes com TB MR ou TB ER foi de 13,4% em co-infectados por VIH e de 62,9% em imunocompetentes. Entre os primeiros, existem diferenças, estatisticamente significativas, consoante estão sob o efeito da TARV concomitante com a terapêutica antituberculosa ou não a façam ou a interrompam, com taxas de cura de 24,4% e de 7,0% respectivamente. Em doentes infectados por VIH demonstra-se, assim, que os ARV podem diminuir a mortalidade da TB resistente, tal como o fazem na TB sensível.<sup>140,144,304</sup> Embora esperado, este benefício nunca fora comprovado em outros estudos clínicos. Quer na TB MR, quer na TB ER, a taxa de cura é, globalmente, maior em imunocompetentes mas, em doentes com história de TB secundária, é mais elevada em co-infectados por VIH (46,7% vs 20,5% em imunocompetentes), provavelmente por maior grau de suspeição e, em doentes com TB primária, é mais elevada em imunocompetentes (79,5% vs 53,3% em co-infectados), naturalmente relacionado com o melhor estado imunitário. Tal como descrito na literatura, as taxas de cura nos doentes deste estudo, com TB MR e TB ER são, substancialmente inferiores, às que se verificam em doentes com TB sensível, pelo que, particularmente em co-infectados por VIH, ajudam a perpetuar a infecção e a disseminação da doença na comunidade. O insucesso terapêutico da TB MR representa, como se sabe, uma ameaça para a emergência de TB ER e de TB TR. Apesar de tudo, em resultado da maior sensibilização, experiência e suspeição para o

diagnóstico, da disponibilização por rotina de testes de sensibilidade de 2ª linha e de testes de diagnóstico molecular e, ainda, do uso alargado da TARV em co-infectados por VIH, a taxa de cura e o prognóstico melhoraram substancialmente, a partir de 2001 quer para imunocompetentes, quer para co-infectados. No período temporal de 1993-2000, a probabilidade de morte por TB MR ou TB ER foi 50% mais elevada, do que no período temporal de 2001-2012. Por outro lado, constata-se que os diferentes regimes terapêuticos usados na TB MR ou na TB ER têm eficácias diferentes, consoante exista ou não co-infecção por VIH, mas não reside na toxicidade medicamentosa a principal razão para a pior adesão e para o maior insucesso terapêutico nos infectados por VIH, pelo que para os co-infectados por VIH, não existe razão para intervenções terapêuticas distintas.

Dois *clusters* predominantes de *M. tuberculosis*, com homologia acima de 85%, identificados como *cluster* Lisboa (56,5% das estirpes estudadas) e *cluster* B (19,6% das estirpes estudadas) e que se crê tenham um antepassado comum, são os principais responsáveis por esta epidemia de TB MR e de TB ER, que decorre em Lisboa, pelo menos desde 1993. Não se sabe, exactamente, quando emergiu a primeira estirpe de TB MR em Portugal, mas estes dois *clusters*, que já tinham sido identificados entre 1992 e 1994, em vários hospitais de Lisboa,<sup>171</sup> foram observados neste estudo, a partir de 1993, sendo responsáveis por uma epidemia nosocomial em 1995 e 1996 (29 estirpes Lisboa e 6 estirpes B).<sup>102,118,126-129</sup> Estas estirpes transmitiram-se entre doentes co-infectados por VIH e imunocompetentes no hospital e na comunidade,<sup>104,130,227,228,245,331</sup> foram identificadas em Vila Nova de Gaia,<sup>227</sup> disseminaram-se para fora do País (Londres)<sup>102,126</sup> e continuaram a ser as mais prevalentes até 2012, responsáveis pelo maior número de casos de TB MR e de TB ER dos doentes avaliados de Lisboa, indicando que não estão contidas. De acordo com alguns estudos, a prevalência da família Lisboa entre os casos de TB MR e de TB ER de Lisboa poderá ser, respectivamente, de 74 e de 80%.<sup>104,130,373</sup> Embora estes *clusters* fossem, previamente, conhecidos do ponto de vista genético, este estudo, é o primeiro que os caracteriza quanto à sua patogenicidade, à sua apresentação clínica e à sua evolução e prognóstico.

Estes dois *clusters* causaram, em 1995 e 1996, uma epidemia nosocomial. Durante esses anos, em que não existiam no Hospital as condições adequadas para a prevenção

da transmissão nosocomial, estiveram internados 99 doentes, mas, apenas, 86 deles puderam ser estudados (80 co-infectados por VIH e seis imunocompetentes). A taxa de cura entre co-infectados por VIH foi de 10% e entre imunocompetentes foi de 83,3%, claramente indicadora do pior prognóstico dos co-infectados, que nesses anos, prevaleciam no internamento. Entre os 80 co-infectados, 27 tinham história no passado de TB sensível aos antituberculosos e incorrectamente tratada e 53 não tinham e, entre os seis imunocompetentes, um tinha história anterior de TB sensível, incorrectamente tratada, e cinco não. Vinte por cento dos doentes tinha referência a internamento por outros motivos e a distribuição epidemiológica dos casos de TB sugeria o predomínio de TB primária e a transmissão de co-infectados por VIH a imunocompetentes. O padrão predominante de resistências, em ambos os grupos de doentes, seria o mesmo que prevaleceria nos anos seguintes e até 2012 quer em co-infectados, quer em imunocompetentes (resistência à INH, RMP, EMB e SM). Nesses dois anos foram caracterizadas, geneticamente, 43 estirpes (em 42 co-infectados e um imunocompetente). Vinte e nove eram estirpes Lisboa, seis eram estirpes B e oito eram estirpes de padrão único. Embora sem diferenças, estatisticamente, significativas, por ser pequena a amostra, os dois *clusters* (Lisboa e B) caracterizaram-se por menores taxas de cura, que durante estes dois anos foram de 4% para a estirpe Lisboa, de 0% para a estirpe B e de 14,3 % para “outras” estirpes e, por menor probabilidade de sobrevivência aos seis meses, que nos infectados pela estirpe Lisboa foi de 28,6%, nos infectados pela estirpe B de 20% e nos infectados por “outras” estirpes de 40%. Estas características manter-se-iam nas estirpes caracterizadas ao longo dos anos seguintes e até 2012. Estes resultados são compatíveis com a maior agressividade e maior letalidade das estirpes Lisboa e das estirpes B e indicam que a infecção por estas estirpes, comparativamente a todas as “outras”, têm pior prognóstico. Também, o padrão de resistência à INH, RMP, EMB e SM (o mais prevalente ao longo de todos os anos do estudo) foi o mais frequente na estirpe Lisboa (em 55,2% dos casos) e, juntamente, com o padrão de resistência à INH, RMP e SM, os mais frequentes na estirpe B (em 66,6% dos casos). Provavelmente, estes serão os padrões de resistência mais característicos da estirpe Lisboa e da estirpe B e, assim, são os mais característicos na TB MR, em Lisboa. A transmissão e a reinfeção de doentes por estas estirpes, foi demonstrada. A tipagem molecular confirmou a

transmissão nosocomial de TB MR entre os doentes do Hospital e, permitiu demonstrar, que os doentes tratados para uma estirpe de *M. tuberculosis*, podiam ser reinfectados por uma estirpe diferente. Os resultados do estudo feito com esta técnica, em Londres, em alguns destes mesmos doentes com TB resistente levantavam, de igual modo, a suspeita da existência de duas cadeias de transmissão nosocomial (estirpe Lisboa e estirpe B).<sup>126</sup> A elevada percentagem de TB MR primária verificada (em 1995 e em 1996) foi, à data, influenciada por carência de medidas preventivas da sua transmissão. Uma vez sensibilizados para o problema, a suspeita e a identificação rápidas, o tratamento correcto, os isolamentos com pressão negativa e a toma sob observação directa (TOD), reduziram, rapidamente, a sua prevalência entre a população de doentes internados.

Em cada *cluster*, embora o padrão de resistências da bactéria pudesse diferir, os mais prevalentes na estirpe Lisboa (resistência à INH, RMP, EMB, SM ou resistência à INH, RMP, SM) coincidiram com os mais identificados ao longo do estudo, em todos os co-infectados e imunocompetentes com TB MR e o padrão mais prevalente, na estirpe B (resistência à INH, RMP, EMB, SM, PZA, ETO, KM, CM, AM, CFX, OFX), coincidiu com o mais identificado em doentes imunocompetentes com TB ER. Esta sobreposição dos padrões de resistência, sugere a presença, de 1993 a 2012, de um número ainda mais elevado de estirpes pertencentes a estes dois *clusters* e que não foram genotipadas. Entre 2001 e 2011, três das estirpes Lisboa (em dois doentes co-infectados por VIH com história no passado de TB sensível, incorrectamente tratada e em um imunocompetente sem TB no passado) e, ainda, uma estirpe B (em co-infectado por VIH sem TB no passado) eram de TB TR, evidenciando que estão a acumular resistências e que, nos últimos anos, se estão a transmitir na comunidade, como estirpes potencialmente intratáveis.

Os dois *clusters*, em particular nos primeiros anos da epidemia (1993 a 1996), em que predominavam os doentes co-infectados por VIH, toxicodependentes e não aderentes ao tratamento, transmitiram-se neste grupo de doentes e, de seguida, a outros co-infectados e a doentes imunocompetentes. Tal ocorreu em meio hospitalar, como se documentou na epidemia nosocomial de 1995 e 1996 e na comunidade, como, também, foi demonstrado por diferentes estudos.<sup>227,228,245</sup> Naqueles anos, a sua prevalência era de 4%,<sup>171</sup> mas a partir daí, os dois *clusters* têm circulado e têm-se

expandido na comunidade, em Lisboa, afectando, agora, também, uma população imunocompetente, mostrando grande patogenicidade e ameaçando espalhar-se ao resto do País. Há menores taxas de cura em infectados pela estirpe Lisboa (21,7%) e pela estirpe B (25%) do que em infectados por “outras” estirpes (42,9%) e, portanto, enquanto sobrevivem, continua a prevalecer maior probabilidade de se manterem bacilíferos e de continuarem a disseminar a infecção. O tempo mediano de sobrevivência (tempo mediano entre a data do diagnóstico e a data da morte) foi de 7,1 meses para os infectados pela estirpe Lisboa, de 6,2 meses para os infectados pela estirpe B e de 51,1 meses para os infectados por “outras” estirpes. Se por um lado, a menor sobrevivência dos doentes infectados pela estirpe Lisboa ou pela estirpe B é reveladora da maior agressividade ou patogenicidade destas estirpes e da sua maior letalidade, por outro, o tempo mediano de sobrevivência (ainda assim de vários meses), a probabilidade de sobrevivência (37,4 a 46,7% aos dois anos) e as baixas taxas de cura a elas associadas, justificam o facto de perpetuarem a sua transmissão na comunidade e de serem detectadas e de prevalecerem 20 anos depois, como é demonstrado neste estudo. Por outro lado, reside nas características destas estirpes, que tudo indica têm resposta diferente à terapêutica antibacilar, uma das razões para as piores taxas de cura e para o pior prognóstico dos co-infectados por VIH com TB MR e TB ER, enquanto para as melhores taxas de cura e para a maior probabilidade de sobrevivência, que se verifica em imunocompetentes, poderá contribuir o facto de estarem, ainda, infectados, numa percentagem apreciável, por estirpes de padrão único. Os padrões de resistência prevalentes nestes dois *clusters*, impossibilitam, com os antituberculosos actualmente disponíveis, a individualização da terapêutica, mas tendo em conta a gravidade da doença, que lhes está associada, deve recomendar-se, como anteriormente referido, a contra-indicação para a utilização de EMB e de SM e a construção de regimes empíricos, que incluam CS, PAS e LZD.

Se bem que exista a noção clara de que certas estirpes (como por exemplo, a estirpe Beijing) estão associadas a maior probabilidade de emergência de resistências,<sup>80,108</sup> não é possível afirmar que elas tenham maior capacidade para mutarem, por disfuncionalidade na replicação do seu ácido desoxiribonucleico (ADN)<sup>374,375</sup> mas, apenas, que a sua transmissão e capacidade replicativa, dependerá da virulência induzida pelas mutações.<sup>376-382</sup> A estirpe Beijing, nos anos 90, revelou grande rapidez

de transmissão, afectando 267 doentes, em quatro hospitais de Nova Iorque,<sup>114-116,132</sup> 86% dos quais infectados por VIH e causando uma mortalidade de 90%, na quase totalidade dos casos em menos de 12 meses. Curiosamente, a grande maioria das estirpes era, invariavelmente, resistente à INH, RMP, EMB, e SM.<sup>110,111,114</sup> Os estudos por genotipagem (*DNA fingerprinting*) mostrariam que uma proporção importante desses casos (até 40%) resultava de transmissão recente.<sup>18,19,115,191</sup> De seguida, disseminou-se por vários hospitais, causando mais de 500 casos até 1995<sup>112,113</sup> e, depois, pela comunidade, sendo encontrada em 10 estados dos EUA.<sup>115,116</sup> As estirpes da família Lisboa, embora com menor taxa de mortalidade, revelaram comportamento epidemiológico e clínico semelhantes.

O número elevado de doentes com TB MR em Lisboa, levanta, ainda, a questão de saber se esse aumento na comunidade é devido, exclusivamente, a estes dois *clusters* de origem portuguesa, com patogenicidade apreciável, ou se poderão estar envolvidas outras estirpes de *M. tuberculosis*, igualmente com características particulares, embora com menor importância epidemiológica. De entre as restantes estirpes estudadas (22,9%), não enquadráveis nos dois *clusters* prevalentes, por terem padrão genotípico único, isolaram-se em 2009 e 2010, duas estirpes Beijing em indivíduos de nacionalidade estrangeira, admitindo-se, que a sua introdução no nosso meio já não é recente. Entre 2013 e 2014 seriam identificadas, de novo, mais três estirpes Beijing (encontram-se disseminadas por todo o Mundo)<sup>109,113,337,342</sup> e uma estirpe Delhi-Cas, a qual é prevalente na Ásia,<sup>343,344</sup> pelo que se comprova que há a introdução periódica, no nosso meio, de estirpes importadas de outras regiões do Globo. Embora elas não contribuam, ainda, de modo significativo, para a dimensão da epidemia, já se espalham na comunidade e, tal como os dois *clusters* responsáveis pela epidemia de Lisboa, poderão, também, vir a expandir-se, tornarem-se dominantes e, agravar ou complicar (dadas as suas características) o controlo da epidemia.

Pelo conjunto dos dados obtidos neste estudo, pode-se entender melhor a origem social da MR o que poderá permitir a adaptação de medidas adequadas de prevenção. Os resultados mostram diferenças epidemiológicas, sociais, na história (ou não) de tratamento anterior e até na apresentação clínica entre os grupos em análise, o que,



juntamente com outros aspectos diferenciadores (diferenças de apresentação radiográfica), poderão contribuir, no todo, para o reconhecimento das razões da epidemia, para melhorar as medidas de prevenção, para a suspeição mais precoce de TB MR e de TB ER, para um diagnóstico mais rápido e, em consequência, para a instituição atempada da terapêutica, reduzindo o risco de resistências e de transmissão nosocomial ou na comunidade.

Pela determinação das taxas de TB MR primária e adquirida foi possível a avaliação da importância, respectivamente, da transmissão activa na comunidade e da insuficiente adesão, na perpetuação da epidemia e das elevadas taxas de resistência. Este estudo mostrou que, uma proporção importante de novos casos resulta de infecção primária ou de reinfecção, por oposição à reactivação. Quanto maior a proporção de casos de TB por reactivação, maior é o potencial para a terapêutica da infecção latente ter impacto em termos de Saúde Pública, pelo contrário, se muitos casos resultam de infecção recente, é, especialmente importante, a sua detecção e o seu tratamento. A avaliação dos diferentes padrões de resistência encontrados e a genotipagem ajuda a relacionar esta cadeia epidemiológica entre co-infectados por VIH e imunocompetentes, a perceber melhor esta relação das estirpes, do ano de 1993 até aos dias de hoje. Os estudos epidemiológicos e genéticos são fundamentais para o maneio adequado da situação local e para perceber se estes *clusters* da família Lisboa continuam confinados a Lisboa ou, se já se espalharam pelo resto do País. Por outro lado, se formos capazes de sequenciar as estirpes e fazer a ligação à apresentação clínica, à resposta ao tratamento e ao prognóstico da doença, poderemos entrar numa nova fase da abordagem da TB.

A TB MR e a TB ER são uma ameaça ao controlo global da TB <sup>3,40,164,383-389</sup> e um importante problema de Saúde Pública, que requer intervenção local e regional nas zonas mais afectadas, como Lisboa.<sup>390</sup> É necessário que todas as estruturas estejam bem articuladas e deve haver um reforço na vigilância, na melhoria do diagnóstico e da cura. Para que um programa tenha sucesso é necessário que atinga 70% de detecção de casos e 85% de sucesso terapêutico,<sup>2,3</sup> o que implica uma rede bem articulada entre medicina hospitalar e saúde pública, entre medicina privada e estatal, que envolva doentes e contactos, nos seus aspectos clínicos e sociais. Programas nacionais de má

qualidade podem estar na génese do aumento substancial de doentes, que cronicamente eliminam bacilos, com frequência, resistentes aos fármacos.

São necessários meios para autonomizar todas as regiões quanto ao diagnóstico, melhoria das condições socioeconómicas da população, combate à toxicodependência, TARV para todos os infectados por VIH, aplicação correcta do programa nacional de prevenção, sensibilização para o rastreio anual da infecção, para o diagnóstico e para o tratamento rápidos e correctos, melhor adesão à terapêutica (a adesão é o factor mais importante do sucesso), generalização da TOD, acções de formação e de educação para doentes e profissionais de saúde e disponibilização alargada dos métodos de diagnóstico mais rápidos, por forma a encurtar o tempo para o diagnóstico. Quando a resistência a todos os agentes de 1ª linha está presente, o resultado é pobre e, por isso, são necessários novos medicamentos, que aumentem as opções terapêuticas da TB MR e dos retratamentos, permitindo simplificá-los e reduzir a sua toxicidade.





## 8. BIBLIOGRAFIA

1. WHO Report 2007; Global tuberculosis control, surveillance, planning, financing. Geneva: WHO, 2007 ([http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2007](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2007)).
2. WHO Global Tuberculosis Report 2013. Geneva: WHO, 2013 ([http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/)).
3. WHO Global Tuberculosis Control Report 2014. Geneva: WHO, 2014 (<http://www.who.int/tb/data>).
4. WHO Report 2008; Global tuberculosis control, surveillance, planning, financing. Geneva: WHO, 2008 ([http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2008](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008)).
5. WHO Global Tuberculosis Control Report 2011. Geneva: WHO, 2011 (<http://www.who.int/tb/data>).
6. WHO Global Tuberculosis Control Report 2010. Geneva: WHO, 2010 (<http://www.who.int/tb/data>).
7. Mudenda V, Lucas S, Shibemba A, et al. Tuberculosis and tuberculosis/HIV/AIDS-associated mortality in Africa: the urgent need to expand and invest in routine and research autopsies. J Infect Dis 2012; 205(Suppl 2):S340-6.
8. WHO Global Tuberculosis Report 2012. Geneva: WHO, 2012 ([http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/)).
9. Raviglione MC, Snider DE, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of a worldwide epidemic. JAMA 1995; 273:220-6.
10. Getahun H, Gunneberg C, Granich R, Nunn P. HIV Infection-associated tuberculosis: the epidemiology and the response. Clin Infect Dis 2010; 50(Suppl 3):S201-7.
11. Selwyn PA, Sckell BM, Alcabes P, Friedland GH, Klein RS, Schoenbaum EE. High risk of active tuberculosis in HIV-infected drug users with cutaneous anergy. JAMA 1992; 268:504-9.
12. Allen S, Batungwanayo J, Kerlekowske K, et al. Two-year incidence of tuberculosis in cohorts of HIV-infected and uninfected urban Rwandan women. Am Rev Respir Dis 1992; 146:1439-44.
13. Guelar A, Gatell J, Verdejo J, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among HIV-infected patients. AIDS 1993; 7:1345-9.

14. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, Março 2011 (<http://www.dgs.pt>).
15. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, Março 2013 (<http://www.dgs.pt>).
16. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, 2012 (<http://www.dgs.pt>).
17. Cantwell MF, Snider DE, Cauthen GM, Onorato IM. Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1992. JAMA 1994; 272:535-9.
18. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. N Engl J Med 1994; 330:1703-9.
19. Alland D, Kalkut GE, Moss AR, et al. Transmission of tuberculosis in New York City: an analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiological methods. N Engl J Med 1994; 330:1710-6.
20. Di Perri G, Cruciani M, Danzi MC, et al. Nosocomial epidemic of active tuberculosis among HIV-infected patients. Lancet 1989; 2:1502-4.
21. Harries AS. Tuberculosis and human immunodeficiency virus infection in developing countries. Lancet 1990; 335:387-90.
22. Hopewell P. Impact of human immunodeficiency virus infection on the epidemiology, clinical features, management and control of tuberculosis. Clin Infect Dis 1992; 18:540-6.
23. Daley C, Small P, Schechter G, et al. An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons with the human immunodeficiency virus: an analysis using restriction-fragment-length polymorphism. N Engl J Med 1992; 326:231-5.
24. Burman WJ, Jones BE. Clinical and radiographic features of HIV-related tuberculosis. Semin Respir Infect 2003; 18:263-71.
25. Chamie G, Luetkemeyer A, Walumsimbi-Nanteza M, et al. Significant variation in presentation of pulmonary tuberculosis across a high resolution of CD4 strata. Int J Tuberc Lung Dis 2010; 14:1295-302.
26. Gilks CF, Brindle RJ, Otieno LS, et al. Extrapulmonary and disseminated tuberculosis in HIV-1 seropositive patients presenting to the acute medical services in Nairobi. AIDS 1990; 4(10):981-5.

27. Elliott AM, Halwiindi B, Hayes RJ, et al. The impact of human immunodeficiency virus on presentation and diagnosis of tuberculosis in a cohort study in Zambia. *J Trop Med Hyg* 1993; 96(1):1-11.
28. Mtei L, Matee M, Herfort O, et al. High rates of clinical and subclinical tuberculosis among HIV-infected ambulatory subjects in Tanzania. *Clin Infect Dis* 2005; 40(10):1500-7.
29. Monkongdee P, McCarthy KD, Cain KP, et al. Yield of acid-fast smear and mycobacterial culture for tuberculosis diagnosis in people with human immunodeficiency virus. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:903-8.
30. Getahun H, Harrington M, O'Brien R, Nunn P. Diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in people with HIV infection or AIDS in resource-constrained settings: informing urgent policy changes. *Lancet* 2007; 369:2042-9.
31. Tostmann A, Kik SV, Kalisvaart NA, et al. Tuberculosis transmission by patients with smear-negative pulmonary tuberculosis in a large cohort in the Netherlands. *Clin Infect Dis* 2008; 47:1135-42.
32. Hernández-Garduño E, Cook V, Kunitomo D, Elwood RK, Black WA, Fitzgerald JM. Transmission of tuberculosis from smear negative patients: a molecular epidemiology study. *Thorax* 2004; 59:286-90.
33. Behr MA, Warren SA, Salomon H, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from patients smear-negative for acid-fast bacilli. *Lancet* 1999; 353:444-9.
34. Small P, Shafer R, Hopewell P, et al. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection. *N Engl J Med* 1993; 328:1137-44.
35. Iseman MD. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 1993; 329:784-91.
36. Sheno S, Friedland G. Extensively drug-resistant tuberculosis: a new face to an old pathogen. *Annu Rev Med* 2009; 60:307-20.
37. Friedland G. Tuberculosis, drug resistance and HIV/AIDS: a triple threat. *Curr Infect Dis Rep* 2007; 9:252-61.
38. Wells CD, Cegielsky JP, Nelson LI et al. HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis-the perfect storm. *J Infect Dis* 2007; 196:86-107.
39. Reichman LB. Multidrug-resistant tuberculosis: meeting the challenge. *Hosp Pract* 1994; 29(5):85-96.

40. Gandhi NR, Nunn P, Dheda K, et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a threat to global control of tuberculosis. *Lancet* 2010; 375:1830-43.
41. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: WHO, 2006. (WHO/HTM/TB/2006.361).
42. Zignol M, Hosseini MS, Wright A, et al. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J Infect Dis* 2006; 194:479-85.
43. Aziz MA, Wright A, Laszlo A, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance): an updated analysis. *Lancet* 2006; 368:2142-54.
44. World Health Organization. Anti-tuberculosis drug resistance in the world: report no. 4. Geneva: WHO, 2008 (<http://www.who.int/tb/publications/2008/drs>).
45. Wright A, Zignol M, Van Deun A, et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002-07: an updated analysis of the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *Lancet* 2009; 373:1861-73.
46. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, von Reyn CF. Tuberculosis. *N Engl J Med* 2013; 368:745-55.
47. Snider D, Dooley S. Nosocomial tuberculosis in the AIDS era with emphasis on multidrug-resistant disease. *Heart Lung* 1993; 22:365-9.
48. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention and control of tuberculosis among homeless persons. *Morb Mortal Wkly Rep* 1992; 41(RR-5):13-23.
49. Nardell E, Brickner P. Tuberculosis in New York City - focal transmission of an often fatal disease. *JAMA* 1996; 276:1259-60.
50. Couldwell DL, Dore GJ, Harkness JL, et al. Nosocomial outbreak of tuberculosis in an outpatient HIV treatment room. *AIDS* 1996; 10(5): 521-5.
51. Fischl MA, Uttamchandani RB, Daikos GL, et al. An outbreak of tuberculosis caused by multidrug-resistant bacilli among patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 1992; 117:177-83.
52. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis to health-care workers and HIV-infected patients in an urban hospital - Florida. *Morb Mortal Wkly Rep* 1990; 39:718-22.
53. Edlin BR, Tokars JJ, Grieco MH, et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalised patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326:1514-21.



54. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis among HIV-infected persons in Florida and New York, 1988-1991. *Morb Mortal Wkly Rep* 1991; 40:585-91.
55. Dheda K, Shean K, Zumla A, et al. Early treatment outcomes and HIV status of patients with extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa: a retrospective cohort study. *Lancet* 2010; 375:1798-807.
56. Frieden TR, Munsiff SS, Ahuja SD. Outcomes of multidrug-resistant tuberculosis treatment in HIV-positive patients in New York City, 1990-1997. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11:116.
57. Wenger PN, Otten J, Breeden A, Orfas D, Beck-Sague CM, Jarvis WR. Control of nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* among health care workers and HIV-infected patients. *The Lancet* 1995; 345:235-40.
58. Caggese K, Volonterio A, Orcece C, et al. Human tuberculosis (MHTB) and multidrug-resistant: clinic epidemiologic remarks following a nosocomial outbreak. Vancouver: XI International Conference on AIDS, 1996. (Abst.Mo.C.1660).
59. Nivin B, Nicholas P, Gayer M, Frieden TR, Fujiwara P. A continuing outbreak of multidrug-resistant tuberculosis, with transmission in a hospital nursery. *Clin Infect Dis* 1998; 26:303-7.
60. Beck-Sague CM, Dooley SW, Hutton MD, et al. Hospital outbreak of multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections: factors in transmission to staff and HIV-infected patients. *JAMA* 1992; 268:1280-6.
61. Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: a risk to patients and health care workers. *Ann Intern Med* 1992; 117:191-6.
62. Valway S, Griefinger R, Papania M, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in a New York State prison system, 1990-1991. *J Infect Dis* 1994; 170:151-6.
63. Valway SE, Richards SB, Kovacovich J, Greifinger RB, Crawford J, Dooley SW. Outbreak of multidrug-resistant tuberculosis in a New York State prison. *Am J Epidemiol* 1991; 140:113-22.
64. Jereb JA, Klevens RM, Privett TD, et al. Tuberculosis in health care workers at a hospital with an outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch Intern Med* 1995; 155:854-9.
65. Agerton T, Valway SE, Gore B, Pozsik C, Bond W, Onorato I. Transmission of a highly drug-resistant strain (strain W) of *Mycobacterium tuberculosis*; community outbreak

and nosocomial transmission via a contaminated bronchoscope. JAMA 1997; 278:1072-7.

66. Guerrero A, Cobo J, Fortun J, et al. Nosocomial transmission of *Mycobacterium bovis* resistant to 11 drugs in people with advanced HIV-infection. Lancet 1997; 350:1738-42.

67. Rulan JV, Herrera D, Cano R, et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Spain. Emerg Infect Dis 1996; 2:125-9.

68. Moro ML, Gori A, Errante I, et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis involving HIV-infected patients from two hospitals in Milan, Italy. AIDS 1998; 12:1095-102.

69. Pitchenik AE, Burr J, Laufer M, et al. Outbreaks of drug-resistant tuberculosis at AIDS centre. Lancet 1990; 336:440-2.

70. Bouvet E. Transmission nosocomiale de tuberculose multirésistante parmi les patients infectés par le VIH: En France, à Paris. Bull Epidemiol Hebd 1991; 45:196-7.

71. Monno L, Angarano G, Carbonara S, et al. Emergence of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in HIV infected patients. Lancet 1991; 337:852.

72. Herrera D, Cano R, Godoy P, et al. Multidrug-resistant tuberculosis outbreak on an HIV ward-Madrid, Spain, 1991-1995. Morb Mortal Wkly Rep 1996; 45:330-3.

73. Anonymous. Outbreak of hospital-acquired multidrug-resistant tuberculosis. Commun Dis Rep 1995; 5:161.

74. O'Donnell MR, Padayatchi N, Kvasnovsky C, Werner L, Master I, Horsburgh CR Jr. Treatment outcomes for extensively drug-resistant tuberculosis and HIV co-infection. Emerg Infect Dis 2013; 19:416-24.

75. Migliori GB, Ortmann J, Girardi E, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis, Italy and Germany. Emerg Infect Dis 2007; 13:780-1.

76. WHO. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB): recommendations for prevention and control. Wkly Epidemiol Rec 2006; 81:430-2.

77. Laserson KF, Thorpe LE, Leimane V, et al. Speaking the same language: treatment outcomes definitions for multidrug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Dis 2005; 9:640-5.

78. Migliori GB, Lange C, Girardi E, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis is worse than multidrug-resistant tuberculosis: different methodology and settings, same results. Clin Infect Dis 2008; 46:958-9.

79. Chan ED, Strand MJ, Iseman MD. Treatment outcomes in extensively resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2008; 359:657-9.
80. Sougakoff W. Molecular epidemiology of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:800-5.
81. Madariaga MG, Laloo UG, Swindells S. Extensively drug-resistant tuberculosis. *Am J Med* 2008; 121:835-44.
82. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notice to readers: revised definition of extensively drug-resistant tuberculosis. *Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 55:1576.
83. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2014. Stockholm: ECDC, 2014 (<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/>).
84. Dheda K, Gumbo T, Gandhi NR, et al. Global control of tuberculosis: from extensively drug-resistant to untreatable tuberculosis. *Lancet Respir Med* 2014; 2:321-8.
85. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368:1575-80.
86. Kam KM, Yip CW. Surveillance of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility to second-line drugs in Hong-Kong, 1995-2002, after the implementation of DOTS-Plus. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8:760-6.
87. Khuê PM, Truffot-Pernot C, Texier-Maugein J, Jarlier V, Robert J. A 10-year prospective surveillance of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in France 1995-2004. *Eur Respir J* 2007; 30:937-44.
88. Tounghousova OS, Mariandyshev AO, Bjune G, Caugant DA, Sandven P. Resistance of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* from the Archangel oblast, Russia, to second-line antituberculosis drugs. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24:202-6.
89. Prammananan T, Arjratanakool W, Chaiprasert A, et al. Second-line drug susceptibilities of Thai multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9:216-9.
90. Masjedi MR, Fadaizadeh L, Taghizadeh Asl A. Notification of patients with tuberculosis detected in the private sector, Tehran, Iran. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11:882-6.

91. Gandhi NR, Moll A, Pawinsky R, et al. High prevalence and mortality from extensively-drug resistant (XDR) TB in TB/HIV coinfecting patients in rural South Africa. Toronto: XVI International AIDS Conference, 2006 (Abst.THLBO210).
92. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs worldwide, 2000-2004. Morb Mortal Wkly Rep 2006; 55(11):301-5.
93. Masjedi MR, Farnia P, Sorooch S, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis: 2 years of surveillance in Iran. Clin Infect Dis 2006; 43:841-7.
94. Hargreaves S. WHO report highlights alarming rise of resistant tuberculosis. Lancet Infect Dis 2008; 8:220.
95. Lai CC, Tan CK, Lin SH, et al. Clinical and genotypic characteristics of extensively drug-resistant and multidrug-resistant tuberculosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29(5):597-600.
96. Velayati AA, Masjedi MR, Farnia P, et al. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. Chest 2009; 136:420-5.
97. Udwadia ZF, Amale RA, Ajbani KK, Rodrigues C. Totally drug-resistant tuberculosis in India. Clin Infect Dis 2012; 54:579-81.
98. Klopper M, Warren RM, Hayes C, et al. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. Emerg Infect Dis 2013; 19:449-55.
99. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da situação epidemiológica, ano de 2004. Divisão de Doenças Transmissíveis. DGS, 2005 (<http://www.dgs.pt>).
100. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, 2007 (<http://www.dgs.pt>).
101. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, 2009 (<http://www.dgs.pt>).
102. Hannan M, Peres H, Maltez F, et al. Investigation and control of a large outbreak of multi-drug resistant tuberculosis at a central Lisbon Hospital. J Hosp Infect 2001; 47:91-7.
103. Maltez F, Cachado P, Martins T, Brum L, Peres H, Machado J. Extensively drug-resistant tuberculosis-case analysis 2003/2007. México: XVII International AIDS Conference, 2008 (Abst.A-072-069-09586).

104. Perdigão J, Macedo R, João I, Fernandes E, Brum L, Portugal I. Multidrug-resistant tuberculosis in Lisbon, Portugal: a molecular epidemiological perspective. *Microb Drug Resist* 2008; 14:133-43.
105. David S, Portugal C, Antunes A, et al. Identificação molecular pelo método de Spoligotyping de estirpes do complexo *Mycobacterium tuberculosis* isoladas no Hospital Fernando Fonseca. *Rev Port Pneumol* 2004; X(3):193-204.
106. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993; 31(2):406-9.
107. Chevrel-Dellagi D, Abderraham A, Haltiti R, Koubaji H, Gicquel B, Dellagi K. Large scale DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* strains as a tool for epidemiological studies of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1993; 31:2446-50.
108. Brown T, Nikolayevskyy V, Velji P, Drobniewski F. Associations between *Mycobacterium tuberculosis* strains and phenotypes. *Emerg Infect Dis* 2010; 16:272-80.
109. Van Soolingen D, Quian L, de Haas PE, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3234-8.
110. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn JO, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1993; 328:521-6.
111. Bloch AB, Cauthen GM, Onorato IM, et al. Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. *JAMA* 1994; 271:665-71.
112. Bifani PJ, Mathema B, Liu Z, et al. Identification of a W variant outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* via population-based molecular epidemiology. *JAMA* 1999; 282:2321-7.
113. Glynn J, Whiteley J, Bifani P, Kremer K, van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(8):843-9.
114. Frieden TR, Sherman LF, Maw KL, et al. A multi-institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis: epidemiology and clinical outcomes. *JAMA* 1996; 276:1229-35.
115. Bifani PJ, Plikaytis BB, Kapur V, et al. Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. *JAMA* 1996; 275:452-7.

116. Friedman CR, Stoeckle MY, Kriswirth BN, et al. Transmission of multidrug-resistant tuberculosis in a large urban setting. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:355-9.
117. Niemann S, Diel R, Kechinashvili G, Gegia M, Mdivani N, Tang YW. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage favors the spread of multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Georgia. *J Clin Microbiol* 2010; 48(10):3544-50.
118. F Maltez, J Machado, A Morgado, R Proença. Tuberculose multirresistente: a 3ª pandemia? *Rev Soc Port Med Int* 1998; 2(5):80-5.
119. Swaminathan S, Padmapriyadarsini C, Narendran G. HIV-associated tuberculosis: clinical update. *Clin Infect Dis* 2010; 50(10):1377-86.
120. Caws M, Thwaites G, Dunstan S, et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog* 2008; 4:e1000034.
121. von Reyen CF. Optimal treatment of codisease due to HIV and tuberculosis. *J Infect Dis* 2011; 204:817-9.
122. von Reyen CF, Kimambo S, Mtei L, et al. Disseminated tuberculosis in human immunodeficiency virus infection: ineffective immunity, polyclonal disease and high mortality. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011; 15:1087-92.
123. Kumar D, Watson J, Charlett A, et al. Tuberculosis in England and Wales in 1993: results of a national survey. *Thorax* 1997; 52:1060-7.
124. Strang J. Tuberculous pericarditis in Transkey. *Clin Cardiol* 1984; 7:667-70.
125. Havlir DV, Barnes PF. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1999; 340:367-73.
126. Hannan M, Peres H, Yates M, et al. From Lisbon to London: the molecular epidemiology, investigations and infection control aspects of an outbreak of multidrug resistant tuberculosis in a London teaching hospital. Paris: 17th National Congress of the European Society of Microbiology, 1996 (Abst.OC159).
127. Maltez F, Peres H, Machado J, et al. Multidrug resistant tuberculosis and HIV infection. Hong Kong: 7<sup>th</sup> International Congress for Infectious Diseases, 1996 (Abst.24029).
128. Maltez F, Peres H, Machado J, et al. Multidrug resistant tuberculosis and HIV infection – a review concerning 152 patients. Varsóvia: 9<sup>th</sup> European AIDS Conference, 2003 (Abst.F12/1).
129. Hannan M, Peres H, Maltez F, Nelson M, Gazzard B. Comparing RFLP IS6110 and PGRS fingerprinting in the investigation of an outbreak of multidrug-resistant

tuberculosis in a central Lisbon hospital. Geneva: 12<sup>th</sup> World AIDS Conference, 1998 (Abst.13203).

130. Perdigão J, Macedo R, Malaquias A, Ferreira A, Brum L, Portugal I. Genetic analysis of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Lisbon, Portugal. J Antimicrob Chemother 2010; 65:224-7.

131. van Rie A, Warren R, Richardson M, et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment. N Engl J Med 1999; 341:1174-9.

132. Coronado VG, Beck-Sague CM, Hutton MD, et al. Transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* among persons with human immunodeficiency virus infection in an urban hospital: epidemiological and restriction length polymorphism analysis. J Infect Dis 1993; 168:1052-5.

133. Sumartojo E. When tuberculosis treatment fails. A social behavioural account of patient adherence. Am Rev Respir Dis 1993; 147:1311-20.

134. Fortún J, Martín-Dávila P, Navas E, et al. Linezolid for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. J Antimicrob Chemother 2005; 56:180-5.

135. Yew W, Chau C, Wen K. Linezolid in the treatment of difficult multidrug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12:345-6.

136. Von der Lippe B, Sandven P, Brubakk O. Efficacy and safety of linezolid in multidrug resistant tuberculosis (MDR TB) - a report of ten cases. J Infect 2006; 52:92-6.

137. Eker B, Ortmann J, Migliori GB, et al. Multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis, Germany. Emerg Infect Dis 2008; 14(11):1700-6.

138. Havlir DV, Getahun H, Sanne I, Nunn P. Opportunities and challenges for HIV care in overlapping HIV and TB epidemics. JAMA 2008; 300(4):423-30.

139. Girardi E, Sabin CA, D'Arminio MA, et al. Incidence of tuberculosis among HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy in Europe and North America. Clin Infect Dis 2005; 41(12):1772-82.

140. Lawn SD, Myer L, Bekker LG, Wood R. Burden of tuberculosis in an antiretroviral treatment programme in sub-Saharan Africa: impact on treatment outcomes and implications for tuberculosis control. AIDS 2006; 20(12):1605-12.

141. Golub JE, Saraceni V, Cavalcante SC, et al. The impact of antiretroviral therapy and isoniazid preventive therapy on tuberculosis incidence in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil. AIDS 2007; 21:1441-8.

142. Miranda A, Morgan M, Jamal L, et al. Impact of antiretroviral therapy on the incidence of tuberculosis: the Brazilian experience, 1995-2001. *PLoS ONE* 2007; 2(9):e826.
143. Lawn SD, Myer L, Edwards D, Bekker LG, Wood R. Short-term and long-term risk of tuberculosis associated with CD 4 cell recovery during antiretroviral therapy in South-Africa. *AIDS* 2009; 23:1717-25.
144. Gandhi N, Moll A, Pawinsky R, Zeller K, Laloo U, Friedland G. Favorable outcomes of integration of TB and HIV treatment in rural South Africa: the Sisonqoba study. Toronto: XVI International AIDS Conference, 2006 (Abst.MOPE0181).
145. Jack C, Laloo U, Karim Q, et al. A pilot study of once-daily antiretroviral therapy integrated with tuberculosis directly observed therapy in a resource-limited setting. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 36:929-34.
146. Dheda K, Lampe FC, Johnson MA, Lipman MC. Outcome of HIV-associated tuberculosis in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2004; 190: 1670-6.
147. French MA, Price P, Stone SF. Immune restoration disease after antiretroviral therapy. *AIDS* 2004; 18(12):1615-21.
148. Manosuthi W, Kiertiburanakul S, Phoorisri T, Sungkanuparph S. Immune reconstitution inflammatory syndrome of tuberculosis among HIV-infected patients receiving antituberculosis and antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2006; 53(6):357-63.
149. Schiffer JT, Sterling TR. Timing of antiretroviral therapy initiation in tuberculosis patients with AIDS: a decision analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44(2):229-34.
150. Michailidis C, Pozniak AL, Mandalia S, Basnayake S, Nelson MR, Gazzard BG. Clinical characteristics of IRIS syndrome in patients with HIV and tuberculosis. *Antivir Ther* 2005; 10(3):417-22.
151. Lawn SD, Myer L, Beckker LG, Wood R. Tuberculosis associated immune reconstitution disease: incidence, risk factors and impact in an antiretroviral treatment service in South Africa. *AIDS* 2007; 21:335-41.
152. Lawn SD, Bekker LG, Miller RF. Immune reconstitution disease associated with mycobacterial infections in HIV infected individuals receiving antiretrovirals. *Lancet Infect Dis* 2005; 5:361-73.
153. Robertson J, Meir M, Wall J, et al. Immune reconstitution syndrome in HIV: validating a case definition and identifying clinical predictors in persons initiating antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1639-46.



154. Manabe YC, Campbell JD, Sydnor E, Moore RD. Immune reconstitution inflammatory syndrome: risk factors and treatment implications. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46:456-62.
155. Burman WJ, Jones BE. Treatment of HIV-related tuberculosis in the era of effective antiretroviral therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:7-12.
156. Karim S, Naidoo K, Grobler A, et al. Integration of antiretroviral therapy with tuberculosis treatment. *N Engl J Med* 2011; 365:1492-501.
157. Blanc F, Sok T, Laureillard D, et al. Earlier versus later start of antiretroviral therapy in HIV-infected adults with tuberculosis. *N Engl J Med* 2011; 365:1471-81.
158. Havlir D, Kendall M, Ive P, et al. Timing of antiretroviral therapy for HIV-1 infection and tuberculosis. *N Engl J Med* 2011; 365:1482-91.
159. Frieden TR, Fujiwara PI, Washko RM, Hamburg MA. Tuberculosis in New York City - turning the tide. *N Engl J Med* 1995; 333:229-33.
160. Zignol M, van Gemert W, Falzon D, et al. Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in the world: an updated analysis, 2007-2010. *Bull World Health Organ* 2012; 90:111D-9D.
161. Tuberculosis MDR-TB and XDR-TB: 2011 progress report. Geneva: WHO, 2011 ([http://www.who.int/tb/challenges/mdr/factsheet\\_mdr\\_progress\\_march2011.pdf](http://www.who.int/tb/challenges/mdr/factsheet_mdr_progress_march2011.pdf)).
162. Dheda K, Shean K, Badri M. Extensively drug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2008; 359:2390.
163. Chan E, Iseman M. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21:587-95.
164. Raviglione MC, Smith IM. XDR tuberculosis-implications for global public health. *N Engl J Med* 2007; 356:656-9.
165. World Health Organization. Improving the diagnosis and treatment of smear-negative pulmonary and extrapulmonary tuberculosis among adults and adolescents: recommendations for HIV-prevalent and resource-constrained settings. Geneva: WHO, 2007 (<http://whqlibdoc.who.int/hq/2007>).
166. Parida SK, Axelsson-Robertson R, Rao MV, et al. Totally-drug resistant tuberculosis and adjunct therapies. *J Int Med* 2015; 277(4):388-405.
167. Migliori GB, De Iaco G, Besozzi G, Centis R, Cirillo DM. First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs. *Euro Surveill* 2007; 12(5):E070517.1.

168. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA 1999; 282:677-86.
169. Barnes PF, Cave MD. Molecular epidemiology of tuberculosis. N Engl J Med 2003; 349:1149-56.
170. Van Soolingen D, Hermans PWM, de Haas PEW, Soll DR, van Embden JDA. Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. J Clin Microbiol 1991; 29:2578-86.
171. Portugal I. Epidemiologia molecular de estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas em Lisboa: descrição preliminar de um genotipo único em Portugal. Rev Port Pneumol 1996; II(6):393-401.
172. Yang ZH, de Haas PE, van Soolingen D, van Embden JD, Andersen AB. Restriction fragment length polymorphism of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from Greenland during 1992: evidence of tuberculosis transmission between Greenland and Denmark. J Clin Microbiol 1994; 32:3018-25.
173. Cave MD, Eisenack KD, Templeton G, et al. Stability of DNA fingerprinting pattern produced with IS6110 in strains of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1994; 32:262-6.
174. Narayanan S. Molecular epidemiology of tuberculosis. Indian J Med Res 2004; 120:233-47.
175. Supply P, Lesjean S, Savine E, Kremer K, van Soolingen D, Locht C. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units. J Clin Microbiol 2001; 39:3563-71.
176. Blackwood KS, Wolfe JN, Kabani AM. Application of mycobacterial interspersed repetitive unit typing to Manitoba tuberculosis cases: can restriction fragment length polymorphism be forgotten? J Clin Microbiol 2004; 42:5001-6.
177. Warren R, Richardson M, Sampson S, et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* with additional markers enhances accuracy in epidemiological studies. J Clin Microbiol 1996; 34:2219-24.
178. Safi H, Aznar J, Palomares JC. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated during a 3-year period (1993 to 1995) in Seville, Spain. J Clin Microbiol 1997; 35:2472-6.
179. Mukherjee JS, Rich ML, Socci AR, et al. Programmes and principles in treatment of multidrug-resistant tuberculosis. Lancet 2004; 363:474-81.

180. Lange C, Abubakar I, Alffenaar JW, et al. Management of patients with multidrug resistant/extensively drug-resistant tuberculosis in Europe: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2014; DOI:10.1183/09031936.00188313.
181. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2012. Stockholm: ECDC, 2012.
182. F Maltez, J Machado, H Peres, et al. Tuberculose Multirresistente e infecção pelo VIH. Maia: III Congresso Nacional sobre SIDA, Maio 1997 (Abst.C15).
183. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional para a Infecção VIH/SIDA. Portugal- Infecção VIH/SIDA e Tuberculose em números-2013. DGS, Outubro 2013 (<http://www.dgs.pt>).
184. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional para a Infecção VIH/SIDA. Portugal, Infecção VIH, SIDA e Tuberculose em números-2014. DGS, 2014 (<http://www.dgs.pt>).
185. Constant CA, Ferreira PB, Valadas E, Antunes F. Tuberculose multirresistente. *Acta Med Port* 2004; 17:157-66.
186. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, 2005 (<http://www.dgs.pt>).
187. Kaye K, Frieden TR. Tuberculosis control: the relevance of classic principles in an era of acquired immunodeficiency syndrome and multidrug resistance. *Epidemiol Rev* 1996; 18:52-63.
188. Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1989; 320:545-50.
189. Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC. Drug-resistant tuberculosis: review of the worldwide situation and the WHO/IUATLD Global Surveillance Project. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S121.
190. Schwoebel V, Papillon F, Haeghebaert S, et al. Surveillance de la tuberculose à bacilles multirésistants en 1992. *Bull Epidemiol Hebd* 1993; 50:235-6.
191. Cegielski JP. Extensively drug-resistant tuberculosis: "there must be some kind of way out of here." *Clin Infect Dis* 2010; 50(Suppl 3):S195-S200.
192. Migliori GB, Espinal M, Danilova ID, Punga VV, Grzemska M, Raviglione MC. Frequency of recurrence among MDR-TB cases successfully treated with standardised short-course chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6:858-64.

193. Kimerling ME, Kluge H, Vezhnina N, et al. Inadequacy of the current WHO retreatment regimen in a central Siberian prison: treatment failure and MDR-TB. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3:451-3.
194. Rieder HL, Cauthen GM, Comstock GW, Snider DE Jr. Epidemiology of tuberculosis in the United States. *Epidemiol Rev* 1989; 11:79-89.
195. Balaji V, Daley P, Anand AA, et al. Risk factors for MDR and XDR-TB in a tertiary referral hospital in India. *PLoS ONE* 2010; 5:e9527.
196. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax* 2006; 61:158-63.
197. Skrahina A, Hurevich H, Zalutskaya A, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors. *Bull World Health Organ* 2013; 91:36-45.
198. Zhao Y, Xu S, Wang L, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China. *N Engl J Med* 2012; 366:2161-70.
199. Ricks PM, Mavhunga F, Modi S, et al. Characteristics of multidrug-resistant tuberculosis in Namibia. *BMC Infect Dis* 2012; 12:385.
200. Narain JP, Raviglione MC, Kochi A. HIV-associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. *Tuberc Lung Dis* 1992; 73:311-21.
201. Marques Gomes MJ. Epidemiologia da tuberculose. *Arq SPPR* 1993; 10:8-14.
202. Antunes ML. Tuberculose em Portugal: epidemiologia. *Arq SPPR* 1993; 10(3):207-17.
203. Antunes ML, Aleixo-Dias J, Antunes AF, Pereira MF, Raymundo E, Rodrigues MF. Anti-tuberculosis drug resistance in Portugal. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4(3):223-31.
204. Peloquin CA, Nitta AT, Burman WJ, et al. Low antituberculosis drug concentrations in patients with AIDS. *Ann Pharmacother* 1996; 30:919-25.
205. Tappero JW, Bradford WZ, Agerton TB, et al. Serum concentrations of antimycobacterial drugs in patients with pulmonary tuberculosis in Botswana. *Clin Infect Dis* 2005; 41:461-9.
206. Gurumurthy P, Ramachandran G, Hemanth K, et al. Decreased bioavailability of rifampin and other antituberculosis drugs in patients with advanced human immunodeficiency virus disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:4473-5.

207. Lutfey M, Della-Latta P, Kapur V, et al. Independent origin of mono-rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with AIDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153(2):837-40.
208. Ridzon R, Whitney CG, McKenna MT, et al. Risk factors for rifampin mono-resistant tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1881-4.
209. Munsiff SS, Joseph S, Ebrahimzadeh A, Frieden TR. Rifampin-monoresistant tuberculosis in New York City, 1993-1994. *Clin Infect Dis* 1997; 25:1465-7.
210. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. April 7, 2005; 1–116.  
(<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>).
211. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. December 1, 2009; 1-161.  
(<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>).
212. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. October 14, 2011; 1–167.  
(<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>).
213. Departamento de Doenças Infecciosas. Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Núcleo de Vigilância Laboratorial de Doenças Infecciosas. Infecção VIH/SIDA: a situação em Portugal a 31 de Dezembro de 2012. Programa Nacional para a Infecção VIH/SIDA, INSA 2013 ([www.insa.pt](http://www.insa.pt)).
214. WHO Global Tuberculosis Control Report 2005. Geneva: WHO, 2005  
([http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/archive/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/archive/en/)).
215. Schim van der Loeff MF, Aaby P. Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2. *AIDS* 1999; 13(Suppl A):S69-84.
216. Lemey P, Pybus OG, Wang B, Saksena NK, Salemi M, Vandamme AM. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:6588-92.
217. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for HIV/AIDS Viral Hepatitis, STD and TB Prevention Division of Tuberculosis elimination. Guide for Primary Health Care Providers: Targeted Tuberculin Testing and Treatment of Latent Tuberculosis Infection. Atlanta, Georgia, 2005.
218. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for HIV/AIDS Viral Hepatitis, STD and TB Prevention

Division of Tuberculosis elimination. TB Facts for Health Care Workers, Atlanta, Georgia, 2006.

219. Duarte R, Amado J, Lucas H, Sapage JM. Tratamento da tuberculose latente: revisão das normas, 2006. Rev Port Pneumol 2007; XIII(3):397-418.

220. Reichman LB, Felton CP, Edsall R. Drug dependence, a possible new risk factor for tuberculosis disease. Arch Intern Med 1979; 139:337-9.

221. Mendes B, Gomes C, Henriques J, et al. Estudo da prevalência da resistência aos antibacilares. Rev Port Pneumol 1996; II(6):375-80.

222. Raviglione MC, Sudre P, Rieder HL, Spinaci S, Kochi A. Secular trends of tuberculosis in western Europe. Bull World Health Organ 1993; 71:297-306.

223. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tuberculosis - Western Europe, 1974-1991. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1993; 42:628-31.

224. Raviglione MC, Rieder HL, Styblo K, Khomenko AG, Esteves K, Kochi A. Tuberculosis trends in eastern Europe and the former USSR. Tuberc Lung Dis 1994; 75:400-16.

225. Antunes ML, Fonseca-Antunes A. The tuberculosis situation in Portugal: a historic perspective to 1994. Euro Surveill 1996; 1(3):19-21.

226. Sudre P, Hirschel BJ, Gatell JM, et al. Tuberculosis among European patients with the acquired immune deficiency syndrome. The AIDS in Europe Study Group. Tuber Lung Dis 1996; 77:322-8.

227. Portugal I, Covas MJ, Brum L, et al. Outbreak of multiple drug-resistant tuberculosis in Lisbon: detection by restriction fragment length polymorphism analysis. Int J Tuberc Lung Dis 1999; 3:207-13.

228. Covas MJ, Brum L, Portugal I, et al. Estudo epidemiológico de um surto de tuberculose multirresistente na área metropolitana de Lisboa. RPD 1998; 21(1-2):38-43.

229. Page MI, Lunn JS. Experience with tuberculosis in a public teaching hospital. Am J Med 1984; 77:667-70.

230. Counsell SR, Tan JS, Dittus RS. Unsuspected pulmonary tuberculosis in a community teaching hospital. Arch Intern Med 1989; 149:1274-8.

231. Badri M, Wilson D, Wood R. Effect of highly active antiretroviral therapy on incidence of tuberculosis in South Africa: a cohort study. Lancet 2002; 359(9323):2059-64.

232. Glynn JR. Resurgence of tuberculosis and the impact of HIV infection. *Br Med Bull* 1998; 54:579-93.
233. Stead WW, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP. Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med* 1990; 322:422-7.
234. Theuer CP, Hopewell PC, Elias D, Schecter GF, Rutherford GW, Chaisson RE. Human immunodeficiency virus infection in tuberculosis patients. *J Infect Dis* 1990; 162:8-12.
235. Espinal MA, Laserson K, Camacho M, et al. Determinants of drug-resistant tuberculosis: analysis of 11 countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:887-93.
236. Clark CM, Li J, Driver CR, Munsiff SS. Risk factors for drug-resistant tuberculosis among non-US-born persons in New York City. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9:964-9.
237. Kliman K, Altraja A. Predictors of extensively drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Ann Intern Med* 2009; 150:766-75.
238. Andrews JR, Shah NS, Weissman D, Moll AP, Friedland G, Gandhi NR. Predictors of multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis in a high HIV prevalence community. *PLoS ONE* 2010; 5:e15735.
239. Barnes PF, Yang Z, Preston-Martin S, et al. Patterns of tuberculosis transmission in Central Los Angeles. *JAMA* 1997; 278:1159-63.
240. Flahiff EW. The occurrence of tuberculosis in persons who failed to react to tuberculin, and in persons with positive tuberculin reactions. *Am J Epidemiol* 1939; 30:69-74.
241. Verver S, Warren RM, Beyers N, et al. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1430-5.
242. Von Reyn CF, Horsburgh CR. Reinfection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:133-4.
243. Lahey T, Mackenzie T, Arbeit RD, et al. Recurrent tuberculosis risk among HIV-infected adults in Tanzania with prior active tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2013; 56:151-8.
244. World Health Organization. Anti-tuberculosis drug resistance in the World: The WHO/IUATLD Global Project on anti-Tuberculosis drug resistance surveillance. Geneva: WHO, 1997.

245. Portugal I, Brum L, Viveiros M, Moniz Pereira J, David H. Tipificação genética de estirpes multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas na região de Lisboa. RPD 1998; 21(1-2):54-9.
246. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for HIV/AIDS Viral Hepatitis, STD and TB Prevention Division of Tuberculosis elimination. Transmission and Pathogenesis of Tuberculosis. Atlanta, Georgia, 2008.
247. Direcção-Geral da Saúde. SARA-Sistema de Alerta e Resposta Apropriada. Lisboa: DGS, 1997 (<http://www.dgs.pt>).
248. Furtado C, Brum L. Vigilância laboratorial da resistência aos antibióticos em Portugal em 2000-2001. Rev Port Pneumol 2003; IX(4): 279-91.
249. Direcção-Geral da Saúde, Programa Nacional de Luta Contra a Tuberculose. Ponto da Situação Epidemiológica e de Desempenho. Sistema de Vigilância da Tuberculose (SVIG-TB). DGS, 2003 (<http://www.dgs.pt>).
250. Barnes PF, Bloch AB, Davidson PT, Snider DE Jr. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1991; 324:1644-50.
251. Shafer RW, Kim DS, Weiss JP, Quale JM. Extrapulmonary tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. Medicine 1991; 70:384-97.
252. Frye MD, Pozsik CJ, Sahn SA. Tuberculous pleurisy is more common in AIDS than in non-AIDS patients with tuberculosis. Chest 1997; 112(2):393-7.
253. Ortbals DW, Avioli LV. Tuberculous pericarditis. Arch Intern Med 1979; 139:231-4.
254. Larrieu AJ, Tyers GF, Williams EH, Derrick JR. Recent experience with tuberculous pericarditis. Ann Thorac Surg 1980; 29:464-8.
255. Mehta JB, Dutt A, Harvill L, Mathews KM. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis. A comparative analysis with pre-AIDS era. Chest 1991; 99:1134-8.
256. Rieder HL, Cauthen GM, Kelly GD, et al. Tuberculosis in the United States. JAMA 1989; 262:385-9.
257. Stenius-Aarniala B, Tukiainen P. Miliary tuberculosis. Acta Med Scand 1979; 206:417-22.
258. Chia YC, Machin SJ. Tuberculosis and severe thrombocytopaenia. Br J Clin Pract 1979; 33:55-8.
259. Olaniyi JA, Aken`Ova YA. Haematologic profile of patients with pulmonary tuberculosis in Ibadan, Nigeria. Afr J Med Sci 2003; 32:239-42.



260. Bowry S, Chan CH, Weiss H, Katz S, Zimmerman HJ. Hepatic involvement in pulmonary tuberculosis. Histologic and functional characteristics. *Am Rev Respir Dis* 1970; 101(6):941-8.
261. Korn RJ, Kellow WF, Heller P. Hepatic involvement in extrapulmonary tuberculosis. Histologic and functional characteristics. *Am J Med* 1959; 27:60-71.
262. Schaffner P, Turner GC, Eshbaugh DE, Buckingham WB, Popper H. Hypergammaglobulinemia in pulmonary tuberculosis. *Arch Intern Med* 1953; 92:490-3.
263. Vilaichone RK, Vilaichone W, Tumwasorn S, Suwanagool P, Wilde H, Mahachai V. Clinical spectrum of hepatic tuberculosis: comparison between immunocompetent and immunocompromised hosts. *J Med Assoc Thai* 2003; 86(Suppl 2):S432-8.
264. Essop AR, Posen JA, Hodgkinson JH, Segal I. Tuberculosis hepatitis: a clinical review of 96 cases. *Q J Med* 1984; 53(212):465-77.
265. Maharaj B, Leary OP, Pudifin DJ. A prospective study of hepatic tuberculosis in 41 African-American patients. *Q J Med* 1987; 63:517-22.
266. Keiper MD, Beumont M, Elshami A, Langlotz CP, Miller WT Jr. CD4 T lymphocyte count and the radiographic presentation of pulmonary tuberculosis. A study of the relationship between these factors in patients with human immunodeficiency virus infection. *Chest* 1995; 107:74-80.
267. Geng E, Kreiswirth B, Burzynski J, Schluger NW. Clinical and radiographic correlates of primary and reactivation tuberculosis: a molecular epidemiology study. *JAMA* 2005; 293(22):2740-5.
268. Greenberg SD, Frager D, Suster B, Walker S, Stauropoulos C, Rothpearl A. Active pulmonary tuberculosis in patients with AIDS: spectrum of radiographic findings (including a normal appearance). *Radiology* 1994; 193(1):115-9.
269. Perlman DC, el-Sadr WM, Nelson ET, et al. Variation of chest radiographic patterns in pulmonary tuberculosis by degree of human immunodeficiency virus-related immunosuppression. The Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS (CPCRA). The AIDS Clinical Trials Group (ACTG). *Clin Infect Dis* 1997; 25(2):242-6.
270. Pepper T, Joseph P, Mwenya C, et al. Normal chest radiography in pulmonary tuberculosis: implications for obtaining respiratory specimen cultures. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12(4):397-403.
271. Jones BE, Young SM, Antoniskis D, Davidson PT, Kramer F, Barnes PF. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1292-7.

272. Lessnau KD, Gorla M, Talavera W. Radiographic findings in HIV-positive patients with sensitive and resistant tuberculosis. *Chest* 1994; 106:687-9.
273. Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet* 2011; 378:57-72.
274. Cain KP, McCarthy KD, Heilig CM, et al. An algorithm for tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV. *N Engl J Med* 2010; 362:707-16.
275. Pastores SM, Naidich DP, Aranda CP, McGuinness G, Rom WN. Intrathoracic adenopathy associated with pulmonary tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Chest* 1993; 103(5):1433-7.
276. Koh DM, Burn PR, Mathews G, Nelson M, Healy JC. Abdominal computed tomographic findings of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium intracellulare* infection in HIV seropositive patients. *Can Assoc Radiol J* 2003; 54:45-50.
277. Samb B, Sow PS, Kony S, et al. Risk factors for negative sputum acid-fast bacilli smears in pulmonary tuberculosis: results from Dakar, Senegal, a city with low HIV seroprevalence. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3(4):330-6.
278. Elliott AM, Luo N, Tembo G, et al. Impact of HIV on tuberculosis in Zambia: a cross sectional study. *Br Med J* 1990; 301:412-5.
279. Luetkemeyer A. Current issues in the diagnosis and management of tuberculosis and HIV coinfection in the United States. *Topics in HIV Med* 2010; 18(4):143-8.
280. Shafer RW, Cauthen GM, Dooley S, et al. Tuberculosis transmission by HIV-associated TB case. Florence: Proceedings of the Seventh International Conference on AIDS, 1991 (Abst.MC3326:79).
281. Mungai M, Nunn P, Nyamwaya J. The effect of HIV-1 on the infectiousness of tuberculosis. Florence: Proceedings of the Eighth International Conference on AIDS, 1992 (Abst.TU-CO569).
282. Bouvet E, Casalino E, Mendoza-Sassi G, et al. A nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* among HIV-infected patients. A case-control study. *AIDS* 1993; 7:1453-60.
283. Perdigão J, Maltez F, Machado D, et al. Beyond Extensively Drug Resistant Tuberculosis in Lisbon, Portugal: a case of Linezolid resistance acquisition presenting as an ilio-psoas abscess. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48(5):569-70.
284. Cegielski P, Nunn P, Kurbatova EV, et al. Challenges and controversies in defining totally drug-resistant tuberculosis. *Emerg Infect Dis* 2012; 18(11):e2 (<http://dx.doi.org/10.3201/eid1811.120526>).

285. Migliori GB, Sotgiu G, Ghandi NR, et al. Drug resistance beyond XDR-TB: results from a large individual patient data meta-analysis. *Eur Respir J* 2013; 42(1):169-79.
286. Wilson ML, Stone BL, Hildred MV, et al. Comparison of recovery rates for mycobacteria from BACTEC 12B vials, Middlebrook 7H11-selective 7H11 biplates, and Lowenstein-Jensen slants in a public health mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2516-8.
287. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Ricordi P, Piersimoni C. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in comparison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44:157-61.
288. Tortoli E, Chichero P, Piersimoni C, Tullia Simonetti M, Gesu G, Nista D. Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3578-82.
289. Frebault VV. Méthodes rapides de détection et de diagnostic des mycobactéries: actualité et perspectives. *Méd Mal Inf* 1992; 22:391-406.
290. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Meeting the challenge of multidrug-resistant tuberculosis: summary of a conference. *Morb Mortal Wkly Rep* 1992; 41(RR-11):49-57.
291. Shinnick TM, Good RC. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. *Clin Infect Dis* 1995; 21(2):291-9.
292. Roberts GD, Goodman NL, Heifets L, et al. Evaluation of the BACTEC radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smear-positive specimens. *J Clin Microbiol* 1983; 18:689-96.
293. European Centre for Disease Prevention and Control. Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm: ECDC, 2011.
294. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tuberculosis Morbidity-United States, 1995. *JAMA* 1996; 275:1625-30.
295. Culliton B. Drug resistant TB may bring epidemic. *Nature* 1992; 356:473.
296. Longuet P, Pierre J, Lacassin F, et al. A limited multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* outbreak. Screening of contact hospitalised patients. S.Francisco: 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995 (Abst.J59).
297. Dooley SW, Villarino ME, Lawrence M, et al. Nosocomial transmission of tuberculosis in a hospital unit for HIV infected patients. *JAMA* 1992; 267:2632-4.

298. Kubin M, Havelkova M, Hyncicova I, et al. A multidrug-resistant tuberculosis microepidemic caused by genetically closely related *Mycobacterium tuberculosis* strains. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2715-6.
299. Abdelaal A, El-Ghaffar HA, Zaghloul MH, EL Mashad N, Badran E, Fathy A. Genotypic detection of rifampicin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by DNA sequencing: a randomized trial. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009; 8:4.doi:10.1186/1476-0711-8-4.
300. Jonas V, Longiaru M. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* by molecular methods. *Clin Lab Med* 1997; 17:119-28.
301. Torres MJ, Criado A, Ruiz M, Llanos AC, Palomares JC, Aznar J. Improved real-time PCR for rapid detection of rifampin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45(3):207-12.
302. Sepkowitz KA, Telzak EE, Recalde S, Armstrong D. Trends in the susceptibility of tuberculosis in New York City, 1987-1991. New York City Area Tuberculosis Working Group. *Clin Infect Dis* 1994; 18(5):755-9.
303. Lawn SD, Myer L, Orrell C, Bekker LG, Wood R. Early mortality among adults accessing a community-based antiretroviral service in South Africa: implications for programme design. *AIDS* 2005; 19(18):2141-8.
304. Manosuthi W, Chottanapand S, Thongyen S, Chaovavanich A, Sungkanuparph S. Survival rate and risk factors of mortality among HIV/tuberculosis-coinfected patients with and without antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 43:42-6.
305. Abdool-Karim SS, Abdool Karim K, Friedland G, Lalloo U, El-Sadr WM, and the START project. Implementing antiretroviral therapy in resource-constrained settings: opportunities and challenges in integrating HIV and tuberculosis care. *AIDS* 2004; 18: 975-9.
306. Holtz TH, Sternberg M, Kammerer S, et al. Time to sputum culture conversion in multidrug-resistant tuberculosis: predictors and relationship to treatment outcome. *Ann Intern Med* 2006; 144:650-9.
307. Skolimowska KH, Rangaka MX, Meintjes G, et al. Altered ratio of IFN-gama/IL-10 in patients with drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* and HIV-tuberculosis immune reconstitution inflammatory syndrome. *PLoS ONE* 2012; 7(10):e46481.
308. Falzon D, Gandhi N, Migliori G, et al. Resistance to fluoroquinolones and second-line injectable drugs: impact on multidrug-resistant TB outcomes. *Eur Respir J* 2013; 42:156-68.

309. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: WHO, 2008 (<http://whqlibdoc.who.int/publications/2008>).
310. Johnston JC, Shahidi N, Sadatsafavi M, Fitzgerald JM. Treatment outcomes of multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 2009; 4(9):e6914.
311. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, et al. Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2009; 9:153-61.
312. Leimane V, Dravniece G, Rjekstina V, et al. Treatment outcome of multidrug/extensively drug-resistant tuberculosis in Latvia, 2000-2004. Eur Respir J 2010; 36:584-93.
313. Mitnick C, Bayona J, Palacios E, et al. Community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis in Lima, Peru. N Engl J Med 2003; 348:119-28.
314. Chaisson R, Nuermberger E. Confronting multidrug-resistant tuberculosis. N Engl J Med 2012; 366:2223-4.
315. Sotgiu G, Ferrara G, Matteelli A, et al. Epidemiology and clinical management of XDR-TB: a systematic review by TBNET. Eur Respir J 2009; 33:871-81.
316. Ahuja SD, Ashkin D, Avendano M, et al, and the Collaborative Group for Meta-Analysis of Individual Patient Data in MDR-TB. Multidrug resistant pulmonary tuberculosis treatment regimens and patient outcomes: an individual patient data meta-analysis of 9.153 patients. PLoS Med 2012; 9:e1001300.
317. Jeon CY, Hwang SH, Min JH, et al. Extensively drug resistant tuberculosis in South Korea: risk factors and treatment outcomes among patients at a tertiary referral hospital. Clin Infect Dis 2008; 46:42-9.
318. Kim H, Hawang SS, Kim HJ, et al. Impact of extensive drug resistance on treatment outcomes in non-HIV-infected patients with multidrug-resistant tuberculosis. Clin Infect Dis 2007; 45:1290-5.
319. Boehme C, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010; 363:1005-15.
320. Lawn SD, Harries AD, Meintjes G, Getahun H, Havlir DV, Wood R. Reducing deaths from tuberculosis in antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa. AIDS 2012; 26:2121-33.

321. Macedo R, Amorim A, Pereira E. Tuberculose multirresistente: detecção directa em amostras respiratórias com o método de genética molecular MTBDR plus. Rev Port Pneumol 2009; XV(3):353-66.
322. Watterson SA, Wilson SM, Yates MD, Drobniewski FA. Comparison of three molecular assays for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1998; 36:1969-73.
323. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: molecular perspectives. Emerg Infect Dis 1998; 4(2):195-207.
324. Drobniewsky FA, Wilson SM. The rapid diagnosis of isoniazid and rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol 1998; 47(3):189-96.
325. Barnard M, Albert H, Coetzee G, O'Brien R, Bosman ME. Rapid molecular screening for multidrug-resistant tuberculosis in a high-volume public health laboratory in South Africa. Am J Respir Crit Care Med 2008; 177:787-92.
326. Walker TM, Kohl TA, Omar SV, et al. Whole-genome sequencing for prediction of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study. Lancet Infect Dis 2015; 15:1193-202.
327. Brown AC, Bryant JM, Einer-Jensen K, et al. Rapid whole genome sequencing of *M.tuberculosis* directly from clinical samples. J Clin Microbiol 2015; 53:2230-7.
328. Small PM, Schechter GF, Goodman PC, Sande MA, Chaisson RE, Hopewell PC. Treatment of tuberculosis in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1991; 324:289-94.
329. Sterling T, Pham P, Chaisson R. HIV infection-related tuberculosis: clinical manifestations and treatment. Clin Infect Dis 2010; 50(3):223-30.
330. Chaulk CP, Kazandjian VA. Directly observed therapy for treatment completion of pulmonary tuberculosis: consensus statement of the Public Health Tuberculosis Guidelines Panel. JAMA 1998; 279:943-8.
331. Portugal I, Maia S, Moniz-Pereira J. Discrimination of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* IS6110 fingerprinting subclusters by rpoB gene mutation analysis. J Clin Microbiol 1999; 37:3022-4.
332. Graffar M. Une méthode de classification sociale d'échantillons de population. Courrier 1956; 6:455-9.
333. Nodieva A, Jansone I, Broka L, Pole I, Skenders G, Baumanis V. Recent nosocomial transmission and genotypes of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis 2010; 14:27-33.

334. Wang W, Hu Y, Mathema B, Jiang W, Kreiswirth B, Xu B. Recent transmission of W-Beijing family *Mycobacterium tuberculosis* in rural eastern China. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16:306-11.
335. Jain NK. Drug resistance in India: a tragedy in the making. *Indian J Tuberc* 1992; 39:145-8.
336. Pablos-Méndez A, Sterling TR, Frieden TR. Survival of patients with tuberculosis in New York City. *JAMA* 1996; 276:1223-8.
337. Ramazanzadeh R, Sayhemiri K. Prevalence of Beijing family in world population: systematic review and meta-analysis. *Internat J Mycobact* 2014; 3:41-5.
338. Jou R, Chiang CY, Huang WL. Distribution of the Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43:95-100.
339. Kruuner A, Hoffner SE, Sillastu H, et al. Spread of drug-resistant pulmonar tuberculosis in Estonia. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3339-45.
340. Tounougousova OS, Sandven P, Mariandyshev AO, Nizovtseva NI, Bjune G, Caugant DA. Spread of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype in the Archangel Oblast, Russia. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1930-7.
341. Cowley D, Govender D, February B, et al. Recent and rapid emergence of W-Beijing strains of *Mycobacterium tuberculosis* in Cape Town. *S Afr Clin Infect Dis* 2008; 47:1252-9.
342. Maltez F, Martins T, Póvoas D, et al. Multidrug-resistant tuberculosis by strains of Beijing family, in patients from Lisbon, Portugal – preliminary report. *Acta Med Port* (aceite para publicação).
343. Malla B, Stucki D, Borrell S, et al. First insights into the phylogenetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in Nepal. *PLoS ONE* 2012; 7(12):e52297.doi:10.1371/journal.pone.0052297.
344. Stavrum R, Myneedu VP, Arora VK, Ahmed N, Grewal HMS. In-depth molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* from New Delhi – predominance of drug resistant isolates of the 'modern' (Tb D1) type. *PLoS ONE* 2009; 4(2):e4540.doi:10.1371/journal.pone.0004540.
345. Brudney K, Dobkin J. Resurgent tuberculosis in New York City. Human immunodeficiency virus, homelessness, and the decline of tuberculosis control programs. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(4):745-9.
346. Bates J, Nardell E. Institutional control measures for tuberculosis in the era of multidrug resistance. *Chest* 1995; 108:1690-710.

347. Maloney SA, Pearson ML, Gordon MT, Castillo R, Boyle JF, Jarvis WR. Efficacy of control measures in preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis to patients and health care workers. *Ann Intern Med* 1995; 122:90-5.
348. Jarvis W, Bolyard E, Bozzi C, et al. Respirators, recommendations and regulations: the controversy surrounding protection of health care workers from tuberculosis. *Ann Intern Med* 1995; 122(2):142-6.
349. Brubacher J, Hoffman R. Hazards of ultraviolet lighting used for tuberculosis control. *Chest* 1996; 109(2):582-3.
350. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care facilities. *Morb Mortal Wkly Rep* 1994; 43(RR-13):1-132.
351. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Tuberculosis Control Division. Guidelines for prevention of TB transmission in hospitals. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1982; DHHS publication no (CDC) 82-8371.
352. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Draft guidelines for preventing the transmission of tuberculosis in health-care facilities, second edition; notice of comment period. *Federal Register* 1993; 58:52810-54.
353. Dooley SW Jr, Castro KG, Hutton MD, Mullan RJ, Polder JA, Snider DE Jr. Guidelines for preventing the transmission of tuberculosis in health care settings, with special focus on HIV-related issues. *Morb Mortal Wkly Rep* 1990; 39(RR-17):1-29.
354. Riley RL, Nardell EA. Clearing the air: the theory and application of ultraviolet air disinfection. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:1286-94.
355. Jarvis WR. Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Res Microbiol* 1993; 144:117-22.
356. Andrews J, Gandhi N, Moodley P, et al. Exogenous re-infection with multidrug and extensively drug-resistant TB among TB/HIV co-infected patients in rural South Africa. Boston: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 2008 (Abst.143).
357. Li X, Zhang Y, Shen X, et al. Transmission of drug-resistant tuberculosis among treated patients in Shangai, China. *J Infect Dis* 2007; 195:864-9.
358. Hannan M, Bell A, Gascoyne-Binzi D, et al. An outbreak of multi-drug-resistant tuberculosis (MDRTB) in a London Teaching Hospital HIV Unit: outbreak investigations, infection control issues and molecular epidemiology. Hong-Kong: 7<sup>th</sup> International Congress for Infectious Diseases, 1996 (Abst.96004).



359. Easterbrook P, Bell A, Hannan M, et al. Nosocomial outbreak of multidrug resistant tuberculosis in a London HIV Unit: outbreak investigation and clinical follow-up. Vancouver: XI International Conference on AIDS, 1996 (Abst.We.B.305).
360. Hannan MM, Hayward A, Peres H, et al. Investigation of the high prevalence of the multidrug-resistant strain Cabral of *Mycobacterium tuberculosis* in a Lisbon community hospital. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 1997; 91:509.
361. Hutton MD, Stead WW, Cauthen GM, Bloch AB, Ewing WM. Nosocomial transmission of tuberculosis associated with a draining abscess. J Infect Dis 1990; 161:286-95.
362. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multidrug-resistant tuberculosis outbreak on an HIV ward-Madrid, Spain, 1991-1995. Morb Mortal Wkly Rep 1996; 45:330-3.
363. Peres H, Bico J. Tuberculose multirresistente-um problema ignorado em Portugal. Rev Port Pneumol 1996; 11(6):381-5.
364. Peloquin CA. Pharmacology of the antimycobacterial drugs. Med Clin North Am 1993; 77:1253-62.
365. Gupta DK, Mital OP, Agarwal MC, Kansal HM, Nath S. A comparison of therapeutic efficacy and toxicity of ethionamide and prothionamide in Indian patients. J Indian Med Assoc 1977; 68:25-9.
366. Tato M, de la Pedrosa EG, Cantón R, et al. In vitro activity of linezolid against *Mycobacterium tuberculosis* complex, including multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates. Int J Antimicrob Agents 2006; 28:75-8.
367. Sotgiu G, Centis R, D'Ambrosio L, et al. Efficacy, safety and tolerability of linezolid containing regimens in treating MDR-TB and XDR-TB: systematic review and meta-analysis. Eur Respir J 2012; 40:1430-42.
368. Lee M, Lee J, Carroll M, et al. Linezolid for treatment of chronic extensively drug-resistant tuberculosis. N Engl J Med 2012; 367:1508-18.
369. Shean K, Streicher E, Pieterse, et al. Drug-associated adverse events and their relationship with outcomes in patients receiving treatment for extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa. PLoS ONE 2013; 8:e63057.
370. Brust JC, Sha NS, van der Merwe TL, et al. Adverse events in an integrated home-based treatment program for MDR-TB and HIV in KwaZulu-Natal, South Africa. J Acquir Immune Defic Syndr 2013; 62:436-40.
371. Isaakidis P, Varghese B, Mansoor H, et al. Adverse events among HIV/MDR-TB co-infected patients receiving antiretroviral and second line anti-TB treatment

in Mumbai, India. PLoS ONE 2012; 7(7):e40781.

372. Seung KJ, Omatayo DB, Keshavjee S, Furin JJ, Farmer PE, Satti H. Early outcomes of MDR-TB treatment in a high-prevalence setting in Southern Africa. PLoS ONE 2009; 4:e7186.

373. Perdigão J, Macedo R, Silva C, et al. Tuberculosis drug-resistance in Lisbon, Portugal: a 6-year overview. Clin Microbiol Infect 2011; 17(9):1397-402.

374. Borrell S, Gagneux S. Strain diversity, epistasis and the evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Microbiol Infect 2011; 17:815-20.

375. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13:1456-66.

376. Blower SM, Gerberding JL. Understanding, predicting and controlling the emergence of drug-resistant tuberculosis: a theoretical framework. J Mol Med 1998; 76:624-36.

377. Dye C, Williams BG. Criteria for the control of drug-resistant tuberculosis. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97:8180-5.

378. Dye C, Espinal M A. Will tuberculosis become resistant to all antibiotics? Proc Biol Sci 2001; 268:45-52.

379. Sherman DR, Mdluki K, Hickey MJ, et al. Compensatory *ahpC* gene expression in isoniazid-resistant in *Mycobacterium tuberculosis*. Science 1996; 272:1641-3.

380. Mariam DH, Mengistu Y, Hoffner SE, Andersson DI. Effect of *rpoB* mutations conferring rifampin resistance on fitness on *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(4):1289-94.

381. Cohen T, Becerra MC, Murray MB. Isoniazid resistance and the future of drug-resistant tuberculosis. Microb Drug Resist 2004; 10:280-5.

382. Gillespie SH, Billington OJ, Breathnach A, McHugh TD. Multiple drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: evidence for changing fitness following passage through human hosts. Microb Drug Resist 2002; 8:273-9.

383. Murray CJL, Styblo K, Pouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. Bull Int Union Tuberc Lung Dis 1990; 65:6-24.

384. Kochi A, Vareldzis B, Styblo K. Multidrug-resistant tuberculosis and its control. Res Microbiol 1993; 144:104-10.

385. World Health Organization. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response. Geneva: WHO, 2010 (WHO/HTM/TB/2010.3).
386. Villarino ME, Geiter LJ, Simone PM. The multidrug-resistant tuberculosis challenge to public health efforts to control tuberculosis. *Public Health Rep* 1992; 107:616-25.
387. Jacobson KR, Tierney DB, Jeon CY, Mitnick CD, Murray MB. Treatment outcomes among patients with extensively drug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2010; 51:6-14.
388. Donald P, van Helden P. The Global Burden of Tuberculosis-Combating Drug Resistance in Difficult Times. *N Engl J Med* 2009; 360:2393-5.
389. Nathanson E, Nunn P, Uplekar M et al. MDR tuberculosis-critical steps for prevention and control. *N Engl J Med* 2010; 363:1050-8.
390. Perdigão J, Silva H, Machado D, et al. Unraveling *Mycobacterium tuberculosis* genomic diversity and evolution in Lisbon, Portugal, a highly drug resistant setting. *BMC Genomics* 2014; 15:991 (<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/15/991>).



## **AGRADECIMENTOS**

Aos doentes, porque sem eles este estudo não seria possível.

Aos colegas do Serviço de Doenças Infecciosas do HCC, pela colaboração clínica, pelo apoio e estímulo constantes.

À Patrícia, pelo seu entusiasmo e pela ajuda amiga e empenhada na longa revisão de processos clínicos.

Às Dras. Sofia Pedro, Ana Sofia Marques e Natacha Cabral pelo seu incansável trabalho estatístico.

À Dra. Helena Peres e à Professora Doutora Isabel Portugal, pela partilha permanente de informação e conhecimentos.

Ao Professor Doutor José Moniz Pereira, pelos seus conselhos, motivação e amizade.

Ao Professor Doutor Francisco Antunes, pela amizade, disponibilidade, paciência, dedicação e rigor, mas sobretudo, pela sabedoria.

À minha mulher e aos meus filhos, pelas horas e dias de que nunca os compensei.

Ao meu pai, pelo que inspira a memória de um homem culto e bom.

